

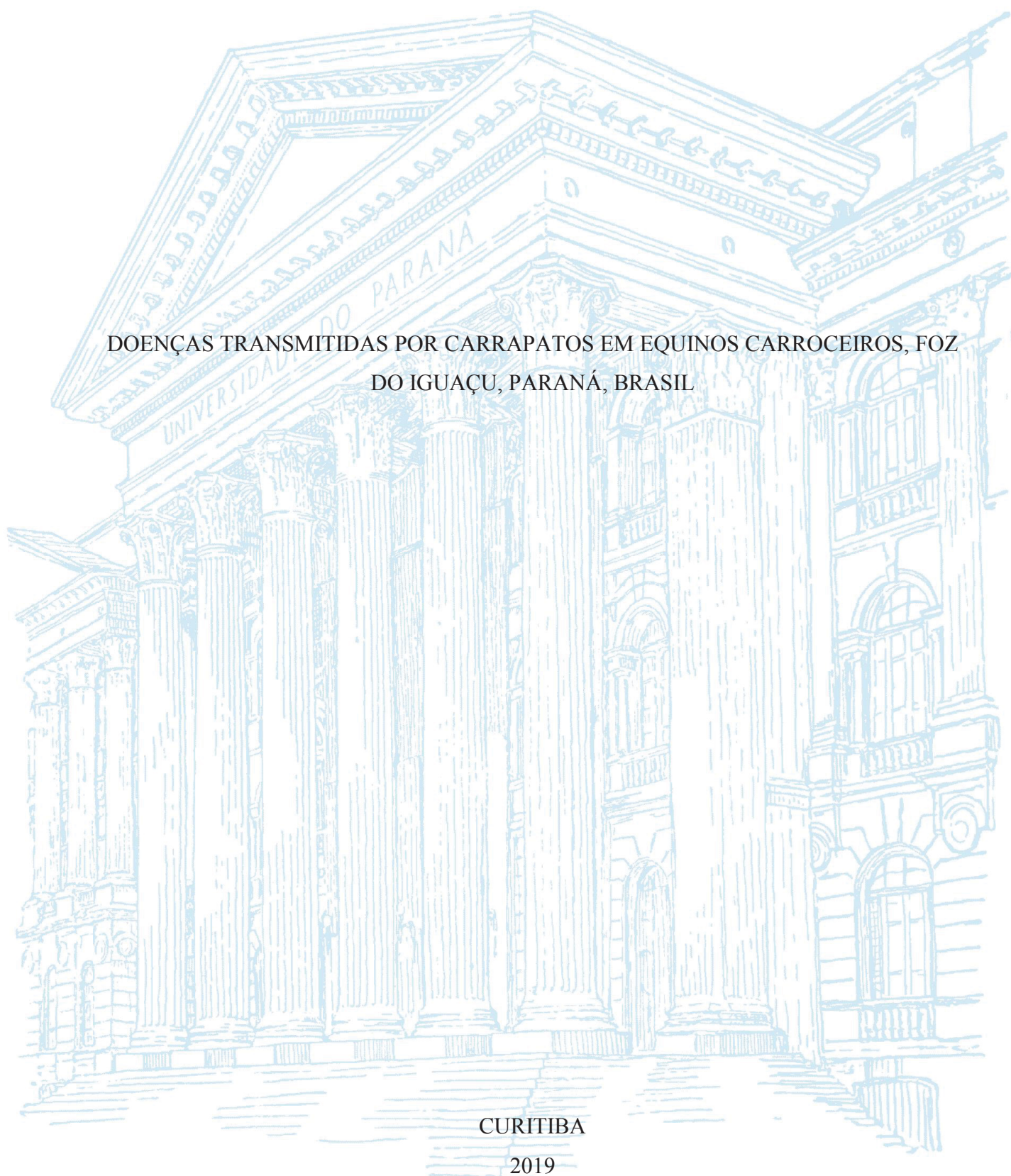
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE

DOENÇAS TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS EM EQUINOS CARROCEIROS, FOZ  
DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL

CURITIBA

2019



JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE

DOENÇAS TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS EM EQUINOS CARROCEIROS, FOZ  
DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira

CURITIBA

2019

V154d Valente, Jessica Damiana Marinho  
Doenças transmitidas por carrapatos em equinos carroceiros,  
Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil / Jessica Damiana Marinho Valente.  
- Curitiba, 2019.  
83 p.: il.,

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor  
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias.

Orientador: Rafael Felipe Da Costa Vieira

1. Doenças transmitidas por carrapato. 2. Artrópode -  
Doenças. 3. Equino - Doenças. I. Vieira, Rafael Felipe Da Costa  
(Orientador). II. Título. III. Universidade federal do Paraná.

CDU 636.1.09(816.2)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE** intitulada: **Doenças transmitidas por carrapatos em equinos carroceiros de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 01 de Março de 2019.



RAFAEL FELIPE DA COSTA VIEIRA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



DANIEL MOURA DE AGUIAR

Avaliador Externo (UFMT)



IVAN ROQUE DE BARROS FILHO

Avaliador Interno (UFPR)

Dedico esse trabalho à minha mãe, que sempre me impulsionou e me guarda em suas  
orações onde quer que eu esteja.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, que a cada abraço de despedida sempre me trazem a satisfação de saber que terei a felicidade e o orgulho no abraço do retorno.

À minha mãe Socorro por toda educação e amor que sempre dedicou a mim e meus irmãos. Desde sempre reconheceu e nos mostrou a importância da educação nas nossas vidas. Ao meu pai José Valente por me ensinar a importância do trabalho e honestidade para seguir uma vida digna.

Aos meus irmãos Jussiara, Geize e Geivison pelo companheirismo de uma vida inteira e pelo apoio nas minhas escolhas. Aos meus sobrinhos Astrid e Samuel, alegrias de nossas vidas.

Ao meu orientador Dr. Rafael Vieira e coorientadora Dra. Thállitha Vieira, que desde a graduação seguem comigo nesse trajeto. Sou muitíssimo grata a vocês pelo crescimento profissional que tive durante esses anos de pesquisa, pelo cuidado que sempre demonstraram comigo e pela oportunidade de aprender com vocês enquanto pessoas e profissionais comprometidos com o que acreditam.

Aos meus parceiros de laboratório que trabalharam e convieram comigo desde que cheguei ao Laboratório de Zoonoses e Biologia Molecular - LAZEM, Carol, Nayara, Kelly, Anna, Cássia, Maria, Viviane, Keila, Leonardo, Ahmed, Nelson e aos estagiários que passaram pelo laboratório com quem pude ensinar e aprender.

Aos docentes do programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFPR pelo conhecimento transmitido.

À UFPR e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo financiamento da minha bolsa de estudos e de projetos conduzidos no LAZEM.

Às instituições parceiras que auxiliam a realização dos nossos projetos. Particularmente na realização desse trabalho, ao CCZ de Foz do Iguaçu, UDC, UEL, UFMT, USP que contribuíram tanto para coleta das amostras quanto das análises laboratoriais.

Seja qual for o objetivo, sem colaboração não conseguiríamos.

A todos muito obrigada!

“Ama-se mais o que se conquista com esforço”.

Benjamin Disraeli



## RESUMO

As doenças transmitidas por carrapatos (DTCs) constituem um importante grupo de doenças que afetam animais e seres humanos em todo o mundo. No Brasil, os carrapatos são considerados os principais artrópodes que acometem os equinos, sendo responsáveis pela transmissão de patógenos com importância na clínica médica equina e na saúde pública. Assim, os objetivos deste estudo foram: i) determinar a prevalência dos patógenos transmitidos por carrapatos *Theileria equi*, *Babesia caballi* e *Ehrlichia* spp., e hemoplasmas em equinos carroceiros; ii) identificar as espécies de carrapatos que estavam parasitando esses animais; e iii) determinar os fatores associados à exposição/infecção na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, Sul do Brasil. Ao todo, 103 amostras de sangue de equinos carroceiros foram analisadas quanto à presença de anticorpos anti-*T. equi* e anti-*Ehrlichia* spp. pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Foi realizada a PCR nas amostras para amplificação dos genes 18S rDNA de *T. equi* e *B. caballi* e 16S rDNA de hemoplasmas. Ainda, as amostras foram testadas por PCR para os genes 16S rDNA, proteína de formação de ligação dissulfeto (*dsb*) e proteínas de repetição de 36 (*trp36*) de *Ehrlichia* spp. Anticorpos anti-*T. equi* e anti-*Ehrlichia* spp. foram detectados em 43/103 (41,75%; IC 95%: 32,10-51,88%) e cinco/103 (4,85%; IC 95%: 1,59-10,97%) cavalos por RIFI, respectivamente. DNA de *T. equi* e *B. caballi* foi identificado em 25/103 (24,27%; IC 95%: 16,36-33,71%) e 10/103 (9,71%; IC 95%: 4,75-17,13%) equinos, respectivamente, e todos foram negativos para *Ehrlichia* spp. e hemoplasmas na PCR. Todas as sequências apresentaram  $\geq 99\%$  de identidade com sequências do gene 18S rDNA de *T. equi* e *B. caballi* depositadas no GenBank. Um total de 191 carrapatos da espécie *Dermacentor nitens* foram coletados de 25/103 (24,27%; IC 95%: 16,36-33,71%) animais. Equinos carroceiros > 5 anos apresentaram mais chance de serem positivos para *T. equi* ( $p < 0,05$ ). Em conclusão, piroplasmas equinos são altamente prevalente em cavalos carroceiros da cidade de Foz do Iguaçu. A baixa prevalência de *Ehrlichia* spp. observada pode estar relacionada à ausência de carrapatos *Amblyomma* infestando os animais. A infecção por hemoplasma em cavalos pode ser considerada uma infecção acidental ou incomum.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Theileria equi*, *Babesia caballi*, *Ehrlichia* spp., hemoplasmas, carrapatos.



## ABSTRACT

Tick-borne diseases (TBD) constitute an important group of illness affecting animals and human beings worldwide. In Brazil, ticks are considered the main arthropods that affect horses, being responsible for the transmission of tick-borne pathogens with importance in equine internal medicine and public health. Accordingly, the aims of this study were to: i) determine the prevalence of the TBD agents *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Ehrlichia* sp., and hemoplasmas in carthorses, ii) identify the tick species parasitizing the animals, and iii) determine factors associated with exposure/infection in Foz do Iguaçu City, Parana state, southern Brazil. A total of 103 carthorses blood samples were screened for anti-*T. equi* and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies by indirect fluorescent antibody assays (IFA). Samples were also tested by PCR assays targeting the 18S rDNA gene of *T. equi* and *B. caballi*, and 16S rDNA gene of hemoplasmas. Additionally, PCR assays targeting the 16S rDNA, disulfide bond formation protein (*dsb*) and tandem repeat proteins 36 (*trp36*) genes of *Ehrlichia* spp. were also performed. Anti-*T. equi* and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies were detected in 43/103 (41.75%; 95% CI: 32.10-51.88%) and five/103 (4.85%; 95% CI: 1.59-10.97%) carthorses by IFA, respectively. DNA of *T. equi* and *B. caballi* were found in 25/103 (24.27%; IC 95%: 16.36-33.71%) and 10/103 (9.71%; IC 95%: 4.75-17.13%) carthorses, respectively, and all tested negative for *Ehrlichia* spp. and hemoplasmas by PCR. All sequences showed  $\geq 99\%$  identity with multiple *T. equi* and *B. caballi* 18S rDNA gene sequences deposited in GenBank database. A total of 191 *Dermacentor nitens* ticks were collected from 25/103 (24.27%; IC 95%: 16.36-33.71%) animals. Carthorses older than 5 years were more likely to be positive for *T. equi* ( $p < 0.05$ ). In conclusion, equine piroplasms are highly prevalent in carthorses from Foz do Iguaçu City. The low prevalence of *Ehrlichia* sp. found herein may be due to the absence of *Amblyomma* ticks infesting the animals, which should be further investigated. Hemoplasma infection in horses may be considered an accidental or uncommon infection.

**KEY-WORDS:** *Theileria equi*, *Babesia caballi*, *Ehrlichia* spp., hemoplasmas, ticks.

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO:

<b>Figura 1.</b> Distribuição da soroprevalência média de <i>T. equi</i> (Mapa 1, esquerda) e <i>B. caballi</i> (Mapa 2, direita) no Brasil.....	23
--	----

### ARTIGO:

<b>Figure 1.</b> Map of Foz do Iguaçu City (Paraná state, southern Brazil) showing the location of carthorses sampled and tick-borne diseases occurrence.....	66
---	----

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO:

<b>Tabela 1.</b> Dados de prevalência de piroplasmas equinos nos estados do Brasil.....	24
---	----

### ARTIGO:

<b>Table 1.</b> Prevalence of <i>T. equi</i> in carthorses within each variable studied, Paraná state, southern Brazil.....	67
<b>Table 2.</b> Prevalence of <i>B. caballi</i> and <i>Ehrlichia spp.</i> in carthorses within each variable studied, Paraná state, southern Brazil.....	68

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ELISA – Ensaio imunoenzimático

cELISA – ELISA competitivo

iELISA – ELISA indireto

RIFI – Reação de imunofluorescência indireta

LAT – Teste de aglutinação em látex

CFT - Teste de fixação do complemento

PCR – Reação em cadeia pela polimerase

qPCR – PCR quantitativo

nPCR – nested-PCR

mPCR – multiplex-PCR

WBT – western blot test

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>14</b>
<b>2. DOENÇAS TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS (DTCs) EM EQUINOS NO BRASIL – REVISÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Introdução .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Carrapatos de importância em equinos.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3. DTCs em equinos .....</b>	<b>18</b>
2.3.1. Piroplasmose.....	18
2.3.2. Erliquiose e Anaplasmoses .....	29
2.3.3. Febre Maculosa Brasileira .....	30
<b>2.4. Potenciais DTCs em equinos.....</b>	<b>31</b>
2.4.1. Micoplasmose hemotrófica.....	31
2.4.2. Borreliose .....	32
<b>Referências .....</b>	<b>34</b>
<b>3. ARTIGO: Tick-borne pathogens in carthorses from Foz do Iguaçu City, Paraná State, southern Brazil: a tri-border area of Brazil, Paraguay and Argentina.....</b>	<b>46</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO 1. AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) - UFPR .....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO 2. QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO .....</b>	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças transmitidas por vetores (DTV) tem aumentado em todo o mundo tanto em seres humanos quanto em animais domésticos e silvestres, causando grandes danos à saúde humana e produtividade animal, principalmente em países em desenvolvimento (DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012; SALEEM et al., 2018). Mudanças climáticas drásticas associadas a mudanças socioeconômicas vêm permitindo que os carrapatos ampliem sua distribuição temporal, hospedeiros susceptíveis e, consequentemente, a transmissão de patógenos (SUTHERST, 2004).

O Brasil é considerado o maior produtor de equinos na América Latina com aproximadamente 5,5 milhões de cabeças e o quarto maior produtor mundial (FAO, 2017; IBGE, 2017). Desde os anos 60, a indústria de equinos cresceu consideravelmente em muitos países, o que tem gerado o aumento do movimento de cavalos em todo o mundo, bem como aumentado o risco de disseminação geral de doenças (DOMINGUEZ et al., 2016). Os equinos desempenham importantes funções como transporte, competição em eventos e corridas equestres internacionais, atividades de lazer, equitação terapêutica, alimentação ou utilizados para tração, o que torna esses animais mais propensos a picadas de carrapatos e a doenças transmitidas por carrapatos (HAUSBERGER et al., 2008; SALEEM et al., 2018).

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) é responsável por basear medidas sanitárias em padrões, diretrizes e recomendações internacionais, cuja finalidade é a regulamentação do comércio seguro e a circulação de animais vivos e seus produtos, incluindo equídeos. O Código Sanitário dos Animais Terrestres (*Terrestrial Animal Health Code - TAHC*) visa garantir a segurança sanitária do comércio internacional de animais terrestres e seus produtos. Nesse manual são estabelecidos critérios referentes à piroplasmose equina, principal doença transmitida por carrapatos que acomete equídeos, como padrões diagnósticos e exigências que devem ser certificadas por autoridades veterinárias de países importadores (OIE, 2014, 2017), uma vez que o transporte internacional de animais pode ser restringido se não estiverem em conformidade.

A piroplasmose é a principal doença transmitida por carrapatos em equinos, causada por *Theileria equi* e *Babesia caballi*. Certas regiões são consideradas endêmicas, pois as prevalências são geralmente altas e muitos animais podem apresentar-se persistentemente infectados (SCOLES; UETI, 2015). Além da piroplasmose equina, uma potencial nova espécie de *Ehrlichia* foi detectada por métodos moleculares no Brasil, cuja

estrutura genética assemelha-se a de cepas ocorrendo em equinos da Nicarágua (O'NION et al., 2015; VIEIRA et al., 2016, 2018b). Práticas ruins de manejo, falta de cuidados veterinários, má nutrição e excesso de trabalho, podem exacerbar os impactos destas infecções (SCOLES; UETI, 2015). Assim, populações de equinos nessas condições, como equinos carroceiros, podem estar mais vulneráveis tanto à infecção quanto à apresentação clínica de doenças.

### **1.1. OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a prevalência de agentes transmitidos por carrapatos (*Theileria equi*, *Babesia caballi* e *Ehrlichia* spp.) e hemoplasmas em equinos carroceiros provenientes de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a prevalência de anticorpos anti-*T. equi* e anti-*Ehrlichia* spp. em equinos carroceiros de Foz do Iguaçu, Paraná, utilizando a RIFI;
- Determinar a prevalência de *T. equi*, *B. caballi*, *Ehrlichia* spp. e *Mycoplasma* sp. utilizando a PCR;
- Caracterizar por métodos moleculares e sequenciamento genético as sequências obtidas;
- Coletar e identificar morfológicamente as espécies de carrapatos presentes nos equinos;
- Verificar fatores associados a infecção/exposição para o(s) agente(s) identificado(s).



## 2. DOENÇAS TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS (DTCs) EM EQUINOS NO BRASIL – REVISÃO

### 2.1. Introdução

Os carrapatos são os vetores artrópodes responsáveis pela transmissão da maior variedade de microrganismos patogênicos, como protozoários, rickettsias, espiroquetas e vírus, afetando animais domésticos e silvestres e humanos no mundo (JONGEJAN; UILENBERG, 2004). A ocorrência de carrapatos e infecções transmitidas por carrapatos evoluíram com a crescente movimentação mundial de animais. Além disso, hospedeiros silvestres constituem importante papel como reservatórios, cuja interação com os animais domésticos tem contribuído para a dispersão de vetores e patógenos nas diferentes espécies animais e humanos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

O Brasil é um país com grande variedade de regiões e ecossistemas, e a produção de cavalos ocorre para diferentes propósitos (LABRUNA et al., 2001). Os carrapatos são considerados os ectoparasitos mais importantes dos equinos, pois são responsáveis pela transmissão de patógenos que limitam o desempenho de cavalos esportivos e impõem restrições sobre o comércio internacional. Além disso, os carrapatos podem causar outros danos aos cavalos como lesões cutâneas com infecção bacteriana secundária devido à picada, além de predispor os animais à outras infecções (ARAGÃO; FONSECA, 1953; FRIEDHOFF; TENTER; MÜLLER, 1990).

Três espécies de carrapatos estão implicadas no parasitismo e transmissão de patógenos de equinos no Brasil. *Dermacentor nitens* é a espécie mais prevalente em equinos, responsável pela transmissão de *B. caballi* (ROBY et al., 1964; SCHWINT et al., 2008), seguida por *Amblyomma cajennense sensu lato (s.l.)* e *Rhipicephalus microplus*, respectivamente, responsáveis pela transmissão de *T. equi* (GUIMARÃES; LIMA; RIBEIRO, 1998; LABRUNA et al., 2001; SCOLES; UETI, 2013). Alguns fatores estão associados tanto com a (co)ocorrência dessas espécies de carrapatos nos equinos quanto à intensidade de infestação, por apresentarem hospedeiros primários específicos, biologia e comportamentos ambientais distintos. Assim, o tipo de pastagem, concentração de animais nos pastos e pastagem simultânea com outras espécies animais, como bovinos, podem favorecer a infestação (LABRUNA et al., 2001).

## 2.2. Carrapatos de importância em equinos

O carrapato *D. nitens* é amplamente distribuído no território brasileiro, sendo a espécie mais comum que parasita equinos (LABRUNA et al., 2002). Apesar dos equinos serem os hospedeiros primários dessa espécie de carrapato, infestações naturais são relatadas em outros animais domésticos e silvestres, como bovinos, cães e onça-parda (BORGES; SILVA, 1994; FERREIRA; BEZERRA; AHID, 2010; MARTINS et al., 2015). Os bovinos também são considerados hospedeiros naturais dessa espécie de carrapato, entretanto o grau de infestação é considerado baixo quando comparado aos equinos, o que sugere que o parasitismo de bovinos por *D. nitens* pode ser acidental (BORGES; SILVA, 1994). Além disso, quando infestados artificialmente, os bovinos não foram considerados hospedeiros competentes para essa espécie de carrapato (RODRIGUES et al., 2017).

*Dermacentor nitens* é um carrapato monoxeno, conhecido por ter uma preferência por infestar as orelhas, períneo, divertículo nasal e a crina dos equinos (BORGES; LEITE, 1993; LABRUNA et al., 2002). Altas infestações podem causar lesões nas orelhas, resultando em dano permanente à cartilagem, além de causar lesões que podem favorecer a ocorrência de miíases e o início de infecções secundárias (LABRUNA; AMAKU, 2006). Na região sudeste do Brasil, *D. nitens* apresenta 3-4 gerações por ano, e os maiores picos de infestação de carrapatos ocorrem no primeiro semestre do ano, seguidos por uma redução drástica que ocorre no mês de agosto, com um novo pico nos meses de setembro e outubro (BORGES; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2000; LABRUNA et al., 2002). Esse carrapato apresenta uma importante adaptação a diferentes variações ambientais, uma vez que sua ocorrência foi observada em fazendas com pastagens com supercrescimento misto, pastagens limpas e em fazendas que praticam ou não o corte da pastagem anualmente (LABRUNA et al., 2001). Além disso, a rotação de pastagem com período de descanso durante o verão podem reduzir a infestação, mas não elimina a ocorrência (LABRUNA et al., 2001).

*Amblyomma cajennense* s.l. comumente conhecido como “carrapato estrela” é amplamente distribuído nas Américas, desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (COOLEY; KOHLS, 1944). No Brasil, ocorre em todo o território nacional, principalmente na região sudeste (VIEIRA et al., 2002). Essa espécie de carrapato causa grandes perdas econômicas por redução de produtividade dos animais e alto custo com acaricidas (CUNHA et al., 2007; OLIVEIRA, 2004; PRATA; ALONSO; SANAVRIA,

1996). Os equinos são considerados os hospedeiros domésticos de maior predileção (LABRUNA et al., 2002), entretanto, devido à baixa especificidade parasitária desse artrópode, ele pode infestar muitas espécies de animais silvestres e domésticos, incluindo seres humanos (ARAGÃO; FONSECA, 1961; PAROLA; RAOULT, 2001). Esse carrapato é conhecido pela capacidade de transmissão de patógenos aos hospedeiros, entre eles a bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira, importante problema de saúde pública em diferentes regiões do Brasil (PAROLA et al., 2013). Além de ser considerado um problema de saúde pública, *A. cajennense* s.l. é responsável por transmitir *T. equi* (SCOLES; UETI, 2013). Essa espécie de carrapato apresenta ciclo trioxeno e de acordo com a ecologia, alguns fatores podem favorecer a sua disseminação nas criações de equinos, como pastagens mais elevadas, com arbustos e ervas, além do uso de tratamentos acaricidas em subdosagens, favorecendo a manutenção dos estágios dos carrapatos no ambiente (LABRUNA et al., 2001).

*Rhipicephalus microplus* representa uma séria ameaça econômica à pecuária em áreas tropicais e subtropicais, particularmente na América do Sul. O grande impacto econômico da infestação por carrapatos em bovinos é causado pela combinação de efeitos diretos e indiretos, incluindo perda de sangue, redução no ganho de peso e produção de leite, risco de miíase e transmissão de doenças (RECK et al., 2014; ROCHA et al., 2011). Apesar de ser um importante ectoparasita de bovinos, relatos de parasitismo por esse ixodídeo em outras espécies de animais domésticos e silvestres têm sido documentados (DA SILVA et al., 2018; SZABÓ et al., 2003). O primeiro relato do parasitismo natural de *R. microplus* em equino foi realizado em 1909 (ROHR, 1909). Nos últimos anos, vários autores relataram a ocorrência de *R. microplus* em equinos de diferentes regiões do país e demonstraram que esse parasitismo pode ser frequente (BARBOSA et al., 1995; BATTSETSEG et al., 2002; HEUCHERT et al., 1999; KERBER et al., 2009; LABRUNA et al., 2001; NOGUEIRA et al., 2017; VIEIRA et al., 2013b). *R. microplus* também é responsável pela transmissão de *T. equi* (UETI et al., 2005), portanto essa espécie de carrapato tem importância não apenas na pecuária bovina mas na produção equina também.

## 2.3. DTCs em equinos

### 2.3.1. Piroplasmose

A piroplasmose equina (PE) é uma doença transmitida por carrapatos que acomete equídeos (cavalos, burros, mulas e zebras) e é considerada a mais importante doença parasitária que afeta equinos em todo o mundo (WISE et al., 2013; ZOBBA et al., 2008). Essa enfermidade é causada pelos hemoprotozoários *T. equi* (anteriormente *B. equi*) e *B. caballi*, pertencentes à ordem Piroplasmorida. Muitos dos protozoários dessa ordem foram classificados de acordo com a morfologia do parasito e células hospedeiras, nas quais se observa a esquizogonia em eritrócitos associado à manifestação da doença e especificidade do hospedeiro (MANS; PIENAAR; LATIF, 2015). O gênero *Theileria* se diferencia por causar primeiro uma infecção de leucócitos por esporozoítos, depois ocorre a maturação de esquizontes em merozoítos e, apenas posteriormente, infectam eritrócitos (UILENBERG, 2006). Por isso, algumas espécies do gênero *Babesia* foram reclassificadas, como *T. equi* (MEHLHORN; SCHEIN, 1998).

A PE é uma doença endêmica no continente asiático e em muitas partes da Europa, Américas do Sul e Central e África (OIE, 2014). A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) inclui a piroplasmose equina na lista de doenças equinas notificáveis, bem como restringe o tráfego internacional de equídeos infectados (OIE, 2017). Ocorre em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, a qual é mantida nas populações de equinos que apresentem vetores artrópodes competentes (PASOLINI et al., 2018). Na América do Sul, a doença ocorre em quase todas as regiões, exceto nas áreas mais ao sul do Chile e da Argentina (WISE et al., 2013). O Brasil é considerado endêmico para infecção por *T. equi* cuja prevalência varia, entre outros fatores, com o tipo de criação e espécies de carrapatos que estão presentes na região estudada (BOTTEON et al., 2002; HEIM et al., 2007).

A transmissão e/ou perpetuação dos agentes da PE é atribuída a carrapatos da família Ixodidae, sendo os carrapatos dos gêneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Ixodes* e *Rhipicephalus* responsáveis pela transmissão intraestadial (IE), perpetuação transestadial (TE) e/ou transovariana (TO) no mundo (SCOLES; UETI, 2015). No Brasil, *T. equi* e *B. caballi* são principalmente transmitidos por *R. microplus* (IE, TE) e *D. nitens* (IE, TE e TO), respectivamente (GUIMARÃES; LIMA; RIBEIRO, 1998; ROBY et al., 1964; SCHWINT et al., 2008; SCOLES; UETI, 2015). O carrapato *A. cajennense* s.l. é considerado vetor competente de *T. equi*, entretanto apenas a

transmissão intraestadial foi comprovada (RIBEIRO; DA SILVEIRA; BASTOS, 2011; SCOLES; UETI, 2013). Outras formas de transmissão também podem ocorrer como a transmissão iatrogênica e infecções intrauterinas. Éguas infectadas com *T. equi* podem ser reservatórios, o que pode levar à transmissão transplacentária, abortos, infecções congênitas em potros e morte neonatal (DE SOUSA et al., 2017; WISE et al., 2013).

A piroplasmose pode causar as formas clínicas aguda e crônica em equinos adultos, bem como síndromes neonatais e abortos em éguas. Na infecção aguda por *T. equi*, os sinais clínicos geralmente estão relacionados à hemólise acentuada, sendo caracterizada por hipertermia, taquicardia e taquipnéia, anorexia, constipação seguida por diarreia, esplenomegalia, trombocitopenia e anemia hemolítica levando a hemoglobinúria e icterícia, que estão associados com altos níveis de parasitemia (DE WAAL; VAN HEERDEN, 2004; ROTHSCCHILD, 2013; WISE et al., 2013). Infecções por *T. equi* ou *B. caballi* podem se apresentar sinais inespecíficos, incluindo letargia, anorexia, perda de peso, e mau desempenho (WISE et al., 2013). Ainda, problemas locomotores estão associados à piroplasmose crônica, como miopatia inflamatória, causando atrofia muscular, fadiga e perda de peso (PASOLINI et al., 2018). Em animais com infecção crônica ou persistente, a anemia pode ser mínima ou ausente, não apresentam sinais clínicos, porém são reservatórios, transmitindo para os carrapatos e para animais susceptíveis, e de forma iatrogênica (ROTHSCCHILD, 2013). Quanto à resposta imunológica não ocorre proteção cruzada entre *T. equi* e *B. caballi*, portanto os animais podem ser infectados com ambos os parasitos simultaneamente (PASOLINI et al., 2018)

Vários testes diagnósticos podem ser utilizados sozinhos ou serem combinados para detectar infecção/exposição aos piroplasmas. O esfregaço sanguíneo é uma técnica simples e rápida, que na fase aguda da infecção, pode-se observar os organismos no interior das células, entretanto é uma técnica de baixa sensibilidade, principalmente em casos com baixa parasitemia. Além disso, esse teste é pouco viável de ser realizado em larga escala, sendo os testes sorológicos mais recomendados (OIE, 2014; WISE et al., 2013).

O diagnóstico sorológico é o recomendado pela OIE como padrão-ouro, principalmente para cavalos destinados à importação para países com ocorrência do vetor. Diversas técnicas sorológicas têm sido utilizadas no diagnóstico exposição aos piroplasmas equinos, como o teste de fixação de complemento (TCF), teste de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA). Além disso, um

teste imunocromatográfico simples e rápido para *T. equi* e *B. caballi* também foi descrito e pode ser utilizado como triagem em plantéis (HUANG et al., 2006). A utilização de antígenos recombinantes em plataforma ELISA tem melhorado o diagnóstico sorológico, e as proteínas EMA-1 e EMA-2 de *T. equi* e RAP-1 e Bc48 de *B. caballi* as mais importantes. Antígenos recombinantes são vantajosos por eliminar a necessidade de infecção experimental de cavalos e as reações cruzadas comuns quando se utiliza antígenos brutos. Variações do teste, como ELISA indireto (iELISA) e ELISA competitivo (cELISA) foram desenvolvidos e mostraram bons resultados, sendo o primeiro ainda em fase de validação (OIE, 2014). O CFT ainda é utilizado por alguns países. Apesar de apresentar sensibilidade e especificidade satisfatórios, esse teste pode não identificar todos os animais infectados, especialmente aqueles que foram tratados. Assim, RIFI e cELISA são considerados os testes mais adequados para o diagnóstico e certificação de animais (OIE, 2014).

O Brasil é considerado endêmico para ocorrência de piroplasmas equinos, no qual têm sido relatados vários estudos com soroprevalências de 100% (BALDANI; NAKAGHI; MACHADO, 2010; BARBOSA et al., 1995; SPOLIDORIO et al., 2010b). As prevalências de piroplasmas, apesar de altas, apresentam algumas variações que podem estar relacionadas a diferenças climáticas entre as regiões, população de equinos estudada, o tipo de método diagnóstico utilizado e dinâmica populacional dos carrapatos (VIEIRA et al., 2013b). As prevalências também variam de acordo com o tipo de agente etiológico, uma vez que as prevalências de *T. equi* são quase sempre maiores que *B. caballi*, provavelmente pelo fato de que os animais infectados por *T. equi* podem ser carreadores por toda a vida (ROTHSCHILD, 2013). A distribuição das soroprevalências médias de *T. equi* e *B. caballi* nos estados do Brasil, de acordo com os inquéritos sorológicos realizados até o momento, estão apresentados nos Mapas 1 e 2, respectivamente (Figura 1).

A maioria dos relatos de ocorrência dos agentes da PE estão na região Sudeste do Brasil, com prevalências para *T. equi* de 16,6% a 100% e 20% a 90% para *B. caballi* no estado de São Paulo (BALDANI et al., 2004, 2011; BALDANI; NAKAGHI; MACHADO, 2010; DÓRIA et al., 2016; HEIM et al., 2007; HEUCHERT et al., 1999; KERBER et al., 2009; XUAN et al., 2001). Apesar de terem menos relatos, os estados do Rio de Janeiro (BARBOSA et al., 1995; BOTTEON et al., 2002; CAMPOS et al., 2013; PECKLE et al., 2013; SANTOS et al., 2011), Minas Gerais (GUIMARÃES et al., 2016;



HEIM et al., 2007; RIBEIRO; COSTA; GUIMARÃES, 1999) e Espírito Santo (SPOLIDORIO et al., 2010b), também apresentam altas prevalências. Alguns desses trabalhos relataram a ocorrência dos carrapatos vetores nos equinos estudados (BARBOSA et al., 1995; CAMPOS et al., 2013; HEUCHERT et al., 1999; KERBER et al., 2009; PECKLE et al., 2013; SANTOS et al., 2011).

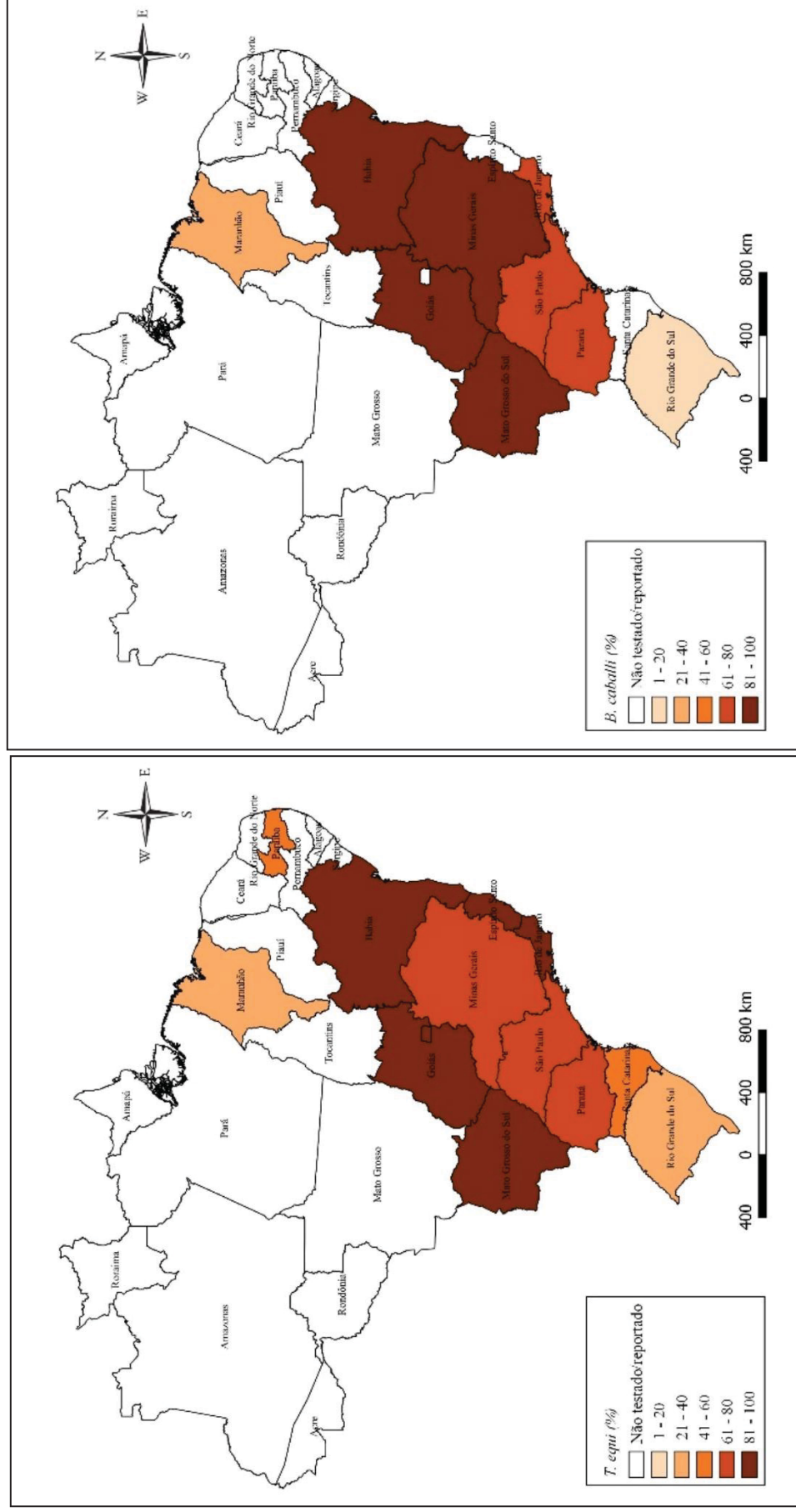
Na região Sul, as prevalências são menores se comparadas à Sudeste. O estado do Rio Grande do Sul concentra o segundo maior efetivo equino do Brasil (IBGE, 2017). Nesse estado, as prevalências de *T. equi* variam entre 18,9% e 35,8% (GOLYNSKI et al., 2008; NIZOLI et al., 2008; VIEIRA et al., 2018a) e 5,55% de prevalência para *B. caballi* (VIEIRA et al., 2018a). Estudo realizado em animais de Santa Catarina mostrou uma prevalência de 50,38% para *T. equi* (SOUZA et al., 2000). No estado do Paraná, as prevalências já se mostraram mais altas com variação de 61% a 78,3% para *T. equi* (PROCHNO et al., 2014; VIEIRA et al., 2013b) e 69,2% para *B. caballi* (VIEIRA et al., 2013b), além de ter sido identificada ocorrência de *A. cajennense* s.l., *D. nitens* e *R. microplus* em equinos estudados (VIEIRA et al., 2013b). Mais estudos são necessários para entender melhor a situação epidemiológica da piroplasmose equina no Sul do Brasil, cujas prevalências se mostram menores em relação aos estados do Sudeste, possivelmente por uma diferença de dispersão dos vetores.

No Centro-Oeste do Brasil, as prevalências no estado do Mato Grosso variaram de 13,2% a 96% para *T. equi* e 0,8% a 8,5% para *B. caballi* (BARROS et al., 2015; BATTSETSEG et al., 2002; SCHEIN et al., 2018), cujo método diagnóstico utilizado foi apenas o molecular. Nos demais estados, Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal, as prevalências mínimas encontradas foram de 81% para *T. equi* e 90% para *B. caballi* (HEIM et al., 2007; SALVAGNI et al., 2010; XUAN et al., 2001), utilizando métodos sorológicos, que são importantes para detectar equinos portadores.

A maioria dos estados da região Nordeste do Brasil não possui dados epidemiológicos relacionados à piroplasmose equina. Estudos realizados na Bahia, mostraram prevalências para *T. equi* de 63,1% a 91% e 83% para *B. caballi* (HEIM et al., 2007; LEAL et al., 2011), com a ocorrência de *D. nitens* e *A. cajennense* s.l. nos animais (LEAL et al., 2011). No estado do Maranhão, 19,4% a 38,4% dos equinos eram positivos para *T. equi* e 18,55% a 55,4% para *B. caballi* (COSTA et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2017), os quais apresentavam *A. cajennense* s.l., *D. nitens* e *R. microplus* (NOGUEIRA et al., 2017). Um estudo realizado na Paraíba, mostrou uma soroprevalência para *T. equi*



de 59,6% (FERREIRA et al., 2016), e outro realizado no Rio Grande do Norte, por diagnóstico molecular, mostrou prevalências de 21,6% e 55,4% para *T. equi* e *B. caballi*, respectivamente. Todos os dados relacionados a prevalências, método diagnóstico e carrapatos coletados em trabalhos publicados sobre a ocorrência de piroplasmas equinos no Brasil estão sumarizados na Tabela 1.



**Figura 1.** Distribuição da soroprevalência média de *T. equi* (Mapa 1, esquerda) e *B. caballi* (Mapa 2, direita) no Brasil.

**Tabela 1.** Dados de prevalência de piroplasmas equinos nos estados do Brasil.

<b>Região</b>	<b>Estado</b>	<b>N</b>	<b>+</b> <b>(%)</b>	<b>Agente</b>	<b>Método</b>	<b>Gene</b>	<b>Carrapatos</b>	<b>Referência</b>
SE	*SP + BA, GO, MG	487	443 (91%)	<i>T. equi</i>	RIFI			Heim et al., 2007
		487	404 (83%)	<i>B. caballi</i>	RIFI		-	
		487	290 (59,7%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-1		
		487	60 (12,5%)	<i>B. caballi</i>	PCR	EMA-1		
SE	SP + SP, MS	47	38 (81%)	<i>T. equi</i>	LAT		-	Xuan et al., 2001
		47	42 (90%)	<i>B. caballi</i>	ELISA			
SE	SP	170	100%	<i>T. equi</i>	RIFI		-	Baldani et al., 2010
		170	108 (63,53%)	<i>T. equi</i>	nPCR	EMA - 1		
SE	SP	140	57 (40,7%)	<i>T. equi</i>	RIFI		<i>A. cajennense s.l., D. nitens, R. microplus</i>	Heuchert et al. 1999
		140	107 (76,4%)	<i>B. caballi</i>	RIFI			
SE	SP	90	67 (75%)	<i>T. equi</i>	ELISA		-	Baldani et al., 2004
SE	SP	582	126 (21,6%)	<i>T. equi</i>	CFT		<i>A. cajennense s.l., D. nitens, R. microplus</i>	Kerber et al., 2009
		582	315 (54,1%)	<i>B. caballi</i>	cELISA			
SE	SP	170	163 (95,88%)	<i>T. equi</i>	ELISA		-	Baldani et al., 2011
SE	SP	30	10 (33,3%)	<i>T. equi</i>	Esfregaço		-	Dória et al., 2016
		30	0	<i>B. caballi</i>	Esfregaço			
		30	5 (16,6%)	<i>T. equi</i>	qPCR	EMA-2		
		30	6 (20%)	<i>B. caballi</i>	qPCR	18S rRNA		

SE	RJ	120	100%	<i>T. equi</i>	RIFI	<i>A. cajennense s.l., D. nitens, R. microplius</i>	Barbosa et al. 1995
		120	65,5%	<i>B. caballi</i>	WBT		
SE	RJ	121	89 (73,55%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Botteon et al. 2002
SE	RJ	714	579 (81,09%)	<i>T. equi</i>	RIFI	<i>A. cajennense s.l., D. nitens</i>	Santos et al., 2011
SE	RJ	314	253 (81%)	<i>T. equi</i>	qPCR	<i>A. cajennense s.l., D. nitens</i>	Peckle et al., 2013
SE	RJ	174	129 (74,14%)	<i>T. equi</i>	iELISA	<i>A. cajennense s.l., D. nitens</i>	Campos et al. 2013
SE	*MG + BA, GO, SP	487	443 (91%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Heim et al., 2007
		487	404 (83%)	<i>B. caballi</i>	RIFI		
		487	290 (59,7%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-1	
		487	60 (12,5%)	<i>B. caballi</i>	PCR	EMA-1	
SE	MG	399	241 (60,4%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Ribeiro et al., 1999
SE	MG	506	288 (57%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Guimarães et al. 2016
SE	ES	27	100%	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Spolidorio et al. 2010
		27	6 (22,2%)	<i>Theileria/ Babesia</i>	PCR	18S rRNA	
S	RS	133	77 (57,9%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Cunha et al., 1996
S	RS	90	17 (18,9%)	<i>T. equi</i>	ELISA	-	Vieira et al. 2018
		90	5 (5,55%)	<i>B. caballi</i>	ELISA		
		90	22 (24,4%)	<i>T. equi</i>	nPCR	18S rRNA	
S	RS	380	120 (31,6%)	<i>T. equi</i>	ELISA	-	Golynski et al., 2008

		380	136 (35,8%)	<i>T. equi</i>	RIFI		
S	RS	113	25 (22,1%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Nizoli et al., 2008
		113	17 (15%)	<i>T. equi</i>	nPCR	EMA-I	
S	SC	397	200 (50,38%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Souza et al. 2000
S	PR	198	155 (78,3%)	<i>T. equi</i>	cELISA	<i>A. cajennense s.l.</i> ,	Vieira et al., 2013
		198	137 (69,2%)	<i>B. caballi</i>	cELISA	<i>D. nitens</i> , <i>R. microplus</i>	
S	PR	198	152 (76,8%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Vieira et al., 2015
		198	155 (78,3%)	<i>T. equi</i>	cELISA		
S	PR	400	242 (61%)	<i>T. equi</i>	ELISA	-	Prochno et al., 2014
CO	MT	121	16 (13,2%)	<i>T. equi</i>	PCR	18S rRNA	Barros et al., 2015
		121	1 (0,8%)	<i>B. caballi</i>	PCR		
CO	MT	1624	421 (25,91%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-I	Schein et al. 2018
		1624	45 (2,74%)	<i>B. caballi</i>	PCR	RAP-I	
CO	MT	47	45 (96%)	<i>T. equi</i>	nPCR	EMA-I	<i>R. microplus</i> Battsetseg et al. 2002
		47	4 (8,5%)	<i>B. caballi</i>	nPCR	EMA-I	
CO	*MS + SP	47	38 (81%)	<i>T. equi</i>	LAT	-	Xuan et al., 2001
		47	42 (90%)	<i>B. caballi</i>	ELISA		
CO	*GO + BA, MG, SP	487	443 (91%)	<i>T. equi</i>	RIFI	-	Heim et al., 2007
		487	404 (83%)	<i>B. caballi</i>	RIFI		
		487	290 (59,7%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-I	
		487	60 (12,5%)	<i>B. caballi</i>	PCR	EMA-I	
CO	DF	20	18 (90%)	<i>T. equi</i>	RIFI	<i>A. cajennense s.l.</i>	Salvagni et al. 2010

NE	*BA + GO, MG, SP	20	19 (95%)	<i>T. equi</i>	ELISA	Heim et al., 2007
		20	9 (45%)	<i>T. equi</i>	nPCR	
		487	443 (91%)	<i>T. equi</i>	RIFI	
		487	404 (83%)	<i>B. caballi</i>	RIFI	
NE	BA	487	290 (59,7%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-1
		487	60 (12,5%)	<i>B. caballi</i>	PCR	EMA-1
		114	72 (63,1%)	<i>T. equi</i>	PCR	<i>A. cajennense s.l.</i> , <i>D. nitens</i>
		114	53 (46,5%)	<i>T. equi</i>	mPCR	18S rRNA
NE	RN	114	70 (61,4%)	<i>T. equi</i>	nPCR	Ribeiro et al., 2013
		25	13 (52%)	<i>Theileria/B. abesia</i>	PCR	
		97	37 (38,14%)	<i>T. equi</i>	RIFI	
		97	18 (18,55%)	<i>B. caballi</i>	RIFI	
NE	MA	97	13 (13,40%)	<i>T. equi</i>	PCR	18S rRNA
		97	3 (3,09%)	<i>B. caballi</i>	PCR	18S rRNA
		139	27(19,4%)	<i>T. equi</i>	ELISA	Braga et al., 2017
		139	35(25,2%)	<i>B. caballi</i>	ELISA	
NE	PB	139	30 (21,6%)	<i>T. equi</i>	PCR	EMA-1
		139	77(55,4%)	<i>B. caballi</i>	PCR	RAP-1
		119	71 (59,6%)	<i>T. equi</i>	RIFI	Ferreira et al., 2016
		119	60 (50,4%)	<i>T. equi</i>	PCR	

\*Estudo utilizou equinos de mais de um estado. N: número de amostras analisadas; + (%): número e porcentagem de amostras positivas; SE: Sudeste; S: Sul; CO: Centro-Oeste; NE: Nordeste.



### 2.3.2. Erliquiose e Anaplasmoses

Erliquioses são doenças transmitidas por carrapatos, causadas por bactérias da ordem Rickettsiales, família Anaplasmataceae, intracelulares obrigatórias, gram-negativas e pleomórficas que infectam uma grande variedade de espécies mamíferas, incluindo humanos, em todo o mundo. Inicialmente, o gênero *Ehrlichia* era classificado em oito espécies de acordo com a célula hospedeira, sendo *E. canis*, *E. risticii* e *E. sennetsu*, infectando monócitos, *E. ewingii*, *E. equi*, *E. phagocytophilum* e agente da erliquiose granulocítica humana (EGH), infectando granulócitos e *E. platys*, trombócitos. Esse gênero foi reorganizado e atualmente, baseado principalmente no gene 16S rRNA, consiste em seis espécies: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *E. ruminantium* e *E. minasensis* (CABEZAS-CRUZ et al., 2016; DUMLER et al., 2001).

A anaplasmoses granulocítica equina (AGE), anteriormente causada por *E. equi*, *E. phagocytophila* e o agente da erliquiose granulocítica humana, pode desenvolver condições febris, anoréxicas e ictericas em equinos (BULLOCK et al., 2000; MADIGAN et al., 1996). Após a reclassificação, esses microrganismos foram reconhecidos como pertencentes à mesma espécie, *A. phagocytophilum* (DUMLER et al., 2001), sendo até então, a única espécie da família Anaplasmatacea transmitida por carrapatos a causar doença em equinos. Na Europa, *A. phagocytophilum* é considerado o agente causal de DTC mais difundido em animais. No Brasil, inquéritos sorológicos têm identificado animais positivos (PRADO et al., 2017a, 2018; ROLIM et al., 2015; SALVAGNI et al., 2010) porém, apesar de ser considerada uma doença emergente, pouco se sabe sobre a epidemiologia, patologia e transmissão, uma vez que o carrapato *Ixodes ricinus*, principal vetor na Europa, não ocorre no Brasil (STUEN, 2007).

Em 2015, foi relatado o primeiro diagnóstico molecular de uma potencial nova espécie de *Ehrlichia* infectando cavalos na Nicarágua (O'NION et al., 2015). Recentemente, um isolado de *Ehrlichia* sp. foi detectado molecularmente no Brasil, cujas sequências dos genes 16S rDNA, *sodB* e *groEL* assemelham-se ao isolado da Nicarágua, sugerindo que são da mesma espécie (VIEIRA et al., 2018b). Apesar de ter sido a primeira evidência molecular, amostras de equinos apresentando anticorpos anti-*Ehrlichia* sp. já havia sido relatadas no Brasil. A soropositividade foi de 62,5% utilizando ELISA comercial (antígenos brutos de *E. canis*) e 50% por RIFI (antígenos brutos de *E. canis* e *E. chaffeensis*) em equinos provenientes de assentamento rural no norte do Paraná (VIEIRA et al., 2013a). No Mato Grosso, 39,6% equinos foram soropositivos para *E. canis* pela RIFI (BARROS et al., 2015). Também no estado do Paraná, estudo conduzido em uma população de cavalos carroceiros detectou 27,4% de animais

soropositivos para *Ehrlichia* sp. pelo ELISA comercial e RIFI, dos quais foi detectada molecularmente a potencial nova espécie de *Ehrlichia* encontrada no Brasil (VIEIRA et al., 2016, 2018b).

A erliquiose monocítica equina (EME), causada pela bactéria *Neorickettsia risticii* (anteriormente *E. risticii*) também é considerado um agente erliquial, porém os carrapatos nunca foram implicados na transmissão de *N. risticii* (DUMLER et al., 2001), mas sim a ingestão de trematódeos de vida livre (água ou vegetação) ou presentes em hospedeiros intermediários, como os caramujos (BARLOUGH et al., 1998). Casos clínicos, inquéritos epidemiológicos da EME e pesquisa parasitária em caramujos foram descritos nas regiões sul e sudeste do Brasil (COIMBRA et al., 2005, 2006, 2013; COSTA et al., 2016; DUTRA et al., 2001; FERRÃO; ABOUD-DUTRA; GAZÊTA, 2007; MOREIRA et al., 2013; ROIER et al., 2016).

### 2.3.3. Febre Maculosa Brasileira

A febre maculosa brasileira (FMB) é uma doença infecciosa de notificação obrigatória, considerada a principal zoonose transmitida por carrapato de ocorrência no Brasil. Ao todo, oito agentes rickettsiais foram descritos no Brasil (NIERI-BASTOS et al., 2014; PAROLA et al., 2013), sendo duas implicadas em doença de seres humanos. A principal delas é a bactéria *R. rickettsii*, agente etiológico da FMB, considerada a mais letal no mundo. Uma nova espécie do grupo febre maculosa foi relatada no Brasil como causadora de uma doença febril mais branda que a FMB, *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica (PAROLA et al., 2013; SPOLIDORIO et al., 2010a).

Os carrapatos *Amblyomma sculptum*, que pertence ao complexo *A. cajennense* s.l., e *A. aureolatum* são considerados os principais vetores de *R. rickettsii* em seres humanos e animais do Brasil, sendo a transmissão por *A. sculptum* associada a áreas antropizadas com presença de capivaras, e a transmissão por *A. aureolatum*, associada a cães com acesso a matas. Já a transmissão de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, está associada a carrapatos *A. ovale*, que são frequentemente encontrados em cães semidomiciliados que vivem em áreas rurais próximas a regiões de mata atlântica (SZABÓ et al., 2013).

No Brasil, as capivaras atuam tanto como hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii* quanto de *A. sculptum*, principal vetor. Entretanto, equinos desempenham um papel relevante na epidemiologia da FMB pela proximidade com os seres humanos e ao constante contato com a vegetação e com os carrapatos infectados (SZABÓ et al., 2013). Além disso, os equinos são

um dos principais hospedeiros de todos os estágios parasitários de *A. sculptum* em regiões endêmicas de FMB (LABRUNA et al., 2002).

Inquéritos sorológicos demonstraram altas prevalências de equinos soropositivos em áreas endêmicas para FMB. O estado de São Paulo concentra a maior ocorrência casos humanos (BRASIL, 2017), onde as prevalências de anticorpos anti-*Rickettsia* em equinos foram de 17,6% a 77,3% (HORTA et al., 2004, 2007; MORAES-FILHO et al., 2009). Em Minas Gerais e no Rio de Janeiro, também é alta a ocorrência de casos humanos, e pesquisas de anticorpos em equinos também mostraram altas prevalências (CORDEIRO et al., 2015; CUNHA et al., 2014; MILAGRES et al., 2010; SILVEIRA et al., 2015; VIANNA et al., 2008). Santa Catarina é o segundo estado do Brasil com maior ocorrência de casos humanos, e, por não haver letalidade, acredita-se que *Rickettsia sp.* cepa Mata Atlântica seja o agente responsável pelos casos nesse estado (BARBIERI et al., 2014). Um estudo realizado com equinos de dois municípios de Santa Catarina mostrou uma soroprevalência de 18,66% (MEDEIROS et al., 2013).

O estado do Paraná não é considerado uma área endêmica para FMB. Inquéritos epidemiológicos tem mostrado que equinos apresentam anticorpos anti-*Rickettsia* (BATISTA et al., 2010; OTOMURA et al., 2010, 2016; TAMEKUNI et al., 2010; TOLEDO et al., 2011), com uma prevalência máxima de 38,5% no norte do estado (TOLEDO et al., 2011) e 9,33% em uma população de equinos carroceiros (FREITAS et al., 2010).

Os equinos não apresentaram alterações bioquímicas, hematológicas ou clínicas de FM e não são considerados hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii*, pois carrapatos alimentados em animais infectados experimentalmente não foram capazes de transmitir a infecção (UENO et al., 2016). Entretanto, foi demonstrada uma correlação entre a ocorrência de casos humanos de FMB em áreas endêmicas e a presença de *A. sculptum* no ambiente e em equinos (SOUZA; PINTER; DONALISIO, 2015). Assim, os equinos podem servir como espécie sentinela quanto a circulação da bactéria e modelo de vigilância ativa, principalmente em áreas não endêmicas.

## **2.4. Potenciais DTCs em equinos**

### **2.4.1. Micoplasmose hemotrópica**

Micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) são bactérias gram-negativas pequenas, pleomórficas e sem parede celular, que aderem à superfície dos eritrócitos de vários hospedeiros como gatos, cães, suínos, animais silvestres, animais de laboratório e humanos (MESSICK, 2004). Anteriormente, os hemoplasmas eram classificados na ordem Rickettsiales e família

Anaplasmataceae. Entretanto, com base em análises filogenéticas do gene 16S rRNA, os gêneros *Haemobartonella* e *Eperythrozoon* foram reclassificados como pertencentes à família Mycoplasmataceae (NEIMARK et al., 2001, 2002). Os hemoplasmas são considerados agentes zoonóticos emergentes, principalmente em pessoas em condições de imunodeficiência (HIV/AIDS, lúpus, neoplasias ou coinfectados), uma vez que infecções em humanos por espécies de hemoplasmas têm sido relatadas, como *M. haemofelis* e *M. haemocanis* (KALLICK, 2007; STEER et al., 2011), *M. suis* (YUAN et al., 2009) e *M. ovis* (SYKES et al., 2010).

Um estudo experimental sugeriu que o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, pode desempenhar um papel na transmissão de hemoplasmas em cães (SENEVIRATNA; WEERASINGHE; ARIYADASA, 1973). No entanto, a importância da transmissão por carrapatos em animais naturalmente infectados é desconhecida, uma vez que os hemoplasmas nunca foram possíveis de serem cultivados fora dos hospedeiros naturais.

O diagnóstico pode ser realizado pela visualização da bactéria aderida à superfície da membrana eritrocitária no exame do esfregaço sanguíneo de rotina. Entretanto, esse método de diagnóstico possui baixa sensibilidade e especificidade, além disso, sabe-se que a ação do anticoagulante EDTA causa desprendimento do agente dos eritrócitos, gerando resultados falsos negativos (TASKER, 2006). Atualmente, a PCR é considerada o método diagnóstico definitivo para detecção e identificação do agente (SYKES, 2010).

O primeiro relato de possível infecção por *Haemobartonella*-like em equinos ocorreu na Nigéria, em um animal apresentando febre, apatia, linfadenite, problemas circulatórias e palidez de mucosas, utilizando o exame de esfregaço sanguíneo como método diagnóstico (GRETILLAT, 1978). Apenas 30 anos depois, foi comprovada, utilizando diagnóstico molecular, a infecção por hemoplasma em dois equinos na Alemanha que apresentavam perda de peso, diminuição da performance e anemia discreta. A espécie de hemoplasma identificada apresentou 98,3% de identidade com “*Candidatus M. haemobos*”, espécie naturalmente encontrada em bovinos (DIECKMANN et al., 2010). No Brasil, cerca de 300 equinos foram estudados quanto à presença de hemoplasmas (FERREIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2015a, 2015b), entretanto ainda não foram detectados equinos infectados.

#### 2.4.2. Borreliose

O complexo *Borrelia burgdorferi* s.l. é um grupo diversificado de bactérias distribuídas em todo o mundo, que inclui 18 espécies de espiroquetas, sendo que três dessas

espécies comumente infectam humanos (*B. burgdorferi s.s.*, *B. afzelii* e *B. garinii*), causando a doença de Lyme (DL). *B. burgdorferi s.s.* é a principal delas, causando DL tanto nos EUA como na Europa, com quadros clínicos que variam de eritema migratório cutâneo à artrites graves ou manifestações neurológicas (RUDENKO et al., 2011). Estima-se que 300 mil casos de DL ocorrem anualmente nos Estados Unidos, sendo uma doença multissistêmica, com diagnóstico e medidas profiláticas baseada no histórico de picada por carratos do complexo *I. ricinus*, vetor da DL nos EUA e Europa, e ter estado em locais de alta ocorrência (ARSNOE; TSAO; HICKLING, 2019).

No Brasil, uma doença semelhante tem sido relatada desde os anos 80. Porém, difere da doença de Lyme que ocorre no hemisfério norte em alguns aspectos, como epidemiologia, manifestações clínicas, vetores envolvidos e agente etiológico e foi classificada como Síndrome de Baggio-Yoshinari (SBY) ou Doença de Lyme-símile Brasileira (YOSHINARI et al., 2010). Acredita-se que o agente etiológico que circula no Brasil seja uma variante semelhante de *B. burgdorferi s.s.* ou mesmo uma nova espécie de *Borrelia*, uma vez que essas espiroquetas ainda não foram isolados de pacientes diagnosticados com SBY no Brasil (MANTOVANI et al., 2012). A transmissão da doença no Brasil está associada a carrapatos *A. cajennense s.l.* e/ou *R. microplus*, pois já foi observado desenvolvimento de manifestações clínicas após picada por essas espécies. Porém esses quadros são caracterizados por ocorrência de recidivas e distúrbios imunológicos ao longo de sua evolução clínica, o que também difere da DL clássica (YOSHINARI et al., 2010).

Pesquisas têm demonstrado soropositividade para *Borrelia* spp. em equinos de regiões endêmicas para DL nos EUA, os quais podem agir como hospedeiros reservatórios da bactéria (MAGNARELLI et al., 2000). No Brasil, estudos identificaram DNA de *Borrelia* sp. em carrapatos que estavam se alimentando em equinos. No Rio de Janeiro, um isolado próximo das espécies *B. theileri* e *B. lonestari* foi identificado em carrapato *R. microplus* (YPARRAGUIRRE et al., 2007) e no Paraná, dois isolados com 99,9% de similaridade com *B. burgdorferi s.s.* foram identificados em carrapatos da espécie *D. nitens* (GONÇALVES et al., 2013). No Brasil, inquéritos sorológicos têm identificado ocorrência de anticorpos anti-*Borrelia* em diferentes regiões, com prevalências de 26,7% no Pará (GALO et al., 2009), 9,68% em Minas Gerais (MONTANDON et al., 2014), 38,9% no Paraná (animais infestados com *A. cajennense s.l.*) (NASCIMENTO et al., 2016), 39,24% no Rio de Janeiro (animais infestados com *A. cajennense s.l.*, *D. nitens* e *R. microplus*) (PRADO et al., 2017b) e 54,04% no Mato Grosso (SOCOLOSKI et al., 2018).

A importância dos equinos na epidemiologia das borrelioses é desconhecida, entretanto os inquéritos sorológicos mostram que os equinos podem servir como sentinelas e hospedeiros de carrapatos possivelmente transmissores de *Borrelia* sp. no Brasil.

## Referências

ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. DA. Notas de ixodologia: VII - *Otocentor nitens* Neuman, 1897) versus *Anocentor columbianus* Schulze, 1937 e comentários sobre a rápida disseminação desse ixodídeo no Brasil (Acari: Ixodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 51, n. 0, p. 499–501, dez. 1953.

ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. DA. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, n. 2, p. 115–129, 1961.

ARSNOE, I.; TSAO, J. I.; HICKLING, G. J. Nymphal *Ixodes scapularis* questing behavior explains geographic variation in Lyme borreliosis risk in the eastern United States. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 19 jan. 2019.

BALDANI, C. D. et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against *Babesia equi* in horses. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1525–1529, out. 2004.

BALDANI, C. D. et al. Production of recombinant EMA-1 protein and its application for the diagnosis of *Theileria equi* using an enzyme immunoassay in horses from São Paulo State, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 20, n. 1, p. 54–60, jan. 2011.

BALDANI, C. D.; NAKAGHI, A. C. H.; MACHADO, R. Z. Occurrence of *Theileria equi* in horses raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 19, n. 4, p. 228–232, 2010.

BARBIERI, A. R. M. et al. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 848–853, 1 out. 2014.

BARBOSA, I. P. et al. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 58, n. 1–2, p. 1–8, maio 1995.

BARLOUGH, J. E. et al. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: Juga spp.) from northern California. **Applied and environmental microbiology**, v. 64, n. 8, p. 2888–93, ago. 1998.

BARROS, E. M. et al. Detecção de *Theileria equi* e *Babesia caballi* e anticorpos anti- *Ehrlichia* spp. em equídeos do Pantanal Mato-Grossense, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 63, n. 3, 2015.

BATISTA, F. G. et al. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 19, n. 4, p. 205–209, 2010.



BATTSETSEG, B. et al. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. **Veterinary parasitology**, v. 107, n. 4, p. 351–7, 22 ago. 2002.

BORGES, L. M. F.; LEITE, R. C. Comparação entre as populações auriculares e nasais de *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) oriundas de equinos de Minas Gerais e Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 109–110, 1993.

BORGES, L. M. F.; SILVA, C. R. F. DA. IXODÍDEOS PARASITOS DE BOVINOS E EQUINOS DA MICRORREGIÃO DE GOIÂNIA, GOIÁS. **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 1, 1994.

BORGES, L. M.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, M. F. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 89, n. 3, p. 165–71, 28 abr. 2000.

BOTTEON, P. DE T. L. et al. Seroprevalencia de *Babesia equi* en tres diferentes sistemas de crianza de equinos: Rio de Janeiro - Brasil. **Parasitología latinoamericana**, v. 57, n. 3–4, p. 141–145, jul. 2002.

BRASIL. **FEBRE MACULOSA - CASOS CONFIRMADOS NOTIFICADOS NO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO - BRASIL.**

Disponível em:

<<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29878153>>. Acesso em: 5 fev. 2019.

BULLOCK, P. M. et al. *Ehrlichia equi* infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 14, n. 3, p. 252–7, 2000.

CABEZAS-CRUZ, A. et al. *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1426–1430, 1 mar. 2016.

CAMPOS, C. H. C. DE et al. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E SOROPREVALÊNCIA DE *Theileria equi* EM EQUINOS DE USO MILITAR NO MUNICÍPIO DE RESENDE, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL. **Revista brasileira de medicina veterinária**, v. 35, n. 2, p. 106–112, 2013.

COIMBRA, H. S. et al. *NEORICKETTSIA (EHRlichia) RISTICII* NO SUL DO BRASIL: *HELEOBIA* SPP. (MOLLUSCA: HYDROBILIDAE) E *PARAPLEUROLOPHOCECOUS CERCARIAE* (TREMATODA: DIGENEA) COMO POSSÍVEIS VETORES. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n.3, p.325-329, jul./set., 2005.

COIMBRA, H. S. et al. Ehrlichiose monocítica equina no Rio Grande do Sul: aspectos clínicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 97–101, jun. 2006.

COIMBRA, H. S. et al. Pesquisa de trematódeos digenéticos em *Heleobia* spp. (Mollusca: Hydrobiidae) em área de ocorrência da Ehrlichiose monocítica equina, no Rio Grande do Sul,



Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 266–272, set. 2013.

COOLEY, R. A.; KOHLS, G. M. The genus *Amblyomma* (Ixodidae) in the United States. **Journal of Parasitology**, v. 30, n. 2, p. 77–111, 1944.

CORDEIRO, M. D. et al. Frequência de anticorpos da classe IgG anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica. **Revista brasileira de medicina veterinária**, v. 37, n. 1, p. 78–82, 2015.

COSTA, R. L. et al. Molecular investigation of *Neorickettsia risticii* in trematodes and snails in a region with serological evidence of this agent in horses, state of Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1470–1478, dez. 2016.

COSTA, S. et al. Genetic diversity of piroplasmids species in equids from island of São Luís , northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 3, 2017.

CUNHA, A. P. DA et al. Controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (acarí: ixodidae) em equinos, Minas Gerais, Brasil - Parte I. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 4, p. 221–228, dez. 2007.

CUNHA, N. C. DA et al. Rickettsiae of the Spotted Fever group in dogs, horses and ticks: an epidemiological study in an endemic region of the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 36, n. 3, 2014.

DA SILVA, N. B. et al. First report of *Anaplasma marginale* infection in goats, Brazil. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202140, 13 ago. 2018.

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437–446, 1 out. 2012.

DE SOUSA, S. H. et al. *Theileria equi* infection causing abortion in a mare in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 8, p. 113–116, 1 maio 2017.

DE WAAL, D. T.; VAN HEERDEN, J. No Title. In: Coetzer JAW, ed. **Equine Babesiosis in Infectious Diseases of Livestock**. 2. ed. Cape Town, South Africa: Oxford University Press, 2004.

DIECKMANN, S. M. et al. Haemotrophic Mycoplasma infection in horses. **Veterinary microbiology**, v. 145, n. 3–4, p. 351–3, 26 out. 2010.

DOMINGUEZ, M. et al. Equine disease events resulting from international horse movements: Systematic review and lessons learned. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 5, p. 641–653, set. 2016.

DÓRIA, R. G. S. et al. Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 8, p. 724–730, 2016.

DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and

Anaplasmatidae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 1 nov. 2001.

DUTRA, F. et al. Equine Monocytic Ehrlichiosis (Potomac Horse Fever) in Horses in Uruguay and Southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 5, p. 433–437, 25 set. 2001.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

FERRÃO, C. M.; ABOUD-DUTRA, A. E.; GAZÊTA, G. S. Equine Monocytic Ehrlichiosis (EME) in Rio de Janeiro State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1575–1578, dez. 2007.

FERREIRA, C. G. T.; BEZERRA, A. C. D. S.; AHID, S. M. M. Ectoparasitas de cães do Município de Apodi, Rio Grande do Norte, Brasil. **PUBVET**, v. 4, n. 14, 2010.

FERREIRA, E. P. et al. Serological and molecular detection of *Theileria equi* in sport horses of northeastern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 47, p. 72–76, 2016.

FREITAS, M. C. D. DE O. et al. Brazilian spotted fever in cart horses in a non-endemic area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, 2010.

FRIEDHOFF, K. T.; TENTER, A. M.; MÜLLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 9, n. 4, p. 1187–94, dez. 1990.

GALO, K. R. et al. Frequência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em equinos na mesorregião metropolitana de Belém, Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 229–232, mar. 2009.

GOLYNSKI, A. A. et al. Estudo soroepidemiológico da *Babesia equi* em equinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, determinado pelos testes de imunofluorescência indireta e Elisa. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 317–321, 2008.

GONÇALVES, D. D. et al. First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Parana (Brazil). **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 44, n. 3, p. 883–7, 2013.

GRETILLAT, S. L'hémobartonellose equine au Niger. **Académie Vétérinaire de France**, v. 51, p. 351–358, 1978.

GUIMARÃES, A. M. et al. Prevalence and risk factors of *Theileria equi* infection in horses in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 3–4, p. 18–

22, 1 jun. 2016.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M. F. B. Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v. 84, n. 4, p. 323–327, 1998.

HAUSBERGER, M. et al. A review of the human–horse relationship. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 109, n. 1, p. 1–24, 1 jan. 2008.

HEIM, A. et al. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. **Parasitology research**, v. 102, n. 1, p. 63–8, dez. 2007.

HEUCHERT, C. M. et al. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 85, n. 1, p. 1–11, 16 ago. 1999.

HORTA, M. C. et al. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 71, n. 1, p. 93–7, jul. 2004.

HORTA, M. C. et al. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793–801, nov. 2007.

HUANG, X. et al. Immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of *Babesia caballi* and *B. equi* infections in horses. **Clinical and vaccine immunology : CVI**, v. 13, n. 5, p. 553–5, maio 2006.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal: Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2017.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129 Suppl, p. S3-14, 2004.

KALLICK, C. A. SPECIFIC BACTERIAL INCLUSIONS IN BONE MARROW CELLS INDICATE SYSTEMATIC LUPUS ERYTHEMATOSUS, AND TREATMENT FOR LUPUS. **US patent, 2007, WO 2007/019415 A2**, 2007.

KERBER, C. E. et al. Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 18, n. 4, p. 1–8, jan. 2009.

LABRUNA, M. B. et al. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 1–14, 2001.

LABRUNA, M. B. et al. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 105, n. 1, p. 65–77, 19 abr. 2002.

LABRUNA, M. B.; AMAKU, M. Rhythm of engorgement and detachment of *Anocentor nitens*

females feeding on horses. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 3–4, p. 316–332, 30 abr. 2006.

LEAL, D. C. et al. Evaluation of PCR and multiplex PCR in relation to nested PCR for diagnosing *Theileria equi*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 7, p. 575–578, 2011.

MADIGAN, J. E. et al. Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic ehrlichia. **Journal of clinical microbiology**, v. 34, n. 2, p. 434–5, fev. 1996.

MAGNARELLI, L. A. et al. Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 7, p. 1045–50, 1 out. 2000.

MANS, B. J.; PIENAAR, R.; LATIF, A. A. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n. 1, p. 104–118, 2015.

MANTOVANI, E. et al. Amplification of the flgE gene provides evidence for the existence of a Brazilian borreliosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, n. 3, p. 153–158, jun. 2012.

MARTINS, T. F. et al. Ocorrência de carrapatos em animais silvestres recebidos e atendidos pelo Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 4, p. 319, 10 dez. 2015.

MEDEIROS, A. P. et al. Antibodies against rickettsiae from spotted fever groups in horses from two mesoregions in the state of Santa Catarina, Brazil. p. 1713–1719, 2013.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. **Parasitology research**, v. 84, n. 6, p. 467–75, jun. 1998.

MESSICK, J. B. Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 33, n. 1, p. 2–13, 2004.

MILAGRES, B. S. et al. *Rickettsia* in Synanthropic and Domestic Animals and Their Hosts from Two Areas of Low Endemicity for Brazilian Spotted Fever in the Eastern Region of Minas Gerais, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 6, p. 1305–1307, 6 dez. 2010.

MONTANDON, C. E. et al. Evidence of *Borrelia* in wild and domestic mammals from the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 287–290, jun. 2014.

MORAES-FILHO, J. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em eqüinos do Centro de Controle de Zoonoses município de São Paulo (CCZ/SP). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 2, 2009.

MOREIRA, L. M. C. et al. Frequency of Equine Monocytic Ehrlichiosis (EME) in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 697–699, jun. 2013.

NASCIMENTO, D. A. G. et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 25, n. 4, p. 418–422, 2016.

NEIMARK, H. et al. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of “*Candidatus Mycoplasma haemofelis*”, “*Candidatus Mycoplasma haemomuris*”, “*Candidatus Mycoplasma haemosuis*” and “*Candidatus Mycoplasma wenyonii*”. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 51, n. 3, p. 891–899, 1 maio 2001.

NEIMARK, H. et al. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 683–683, 1 mar. 2002.

NIERI-BASTOS, F. A. et al. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 2, p. 1–3, 2014.

NIZOLI, L. Q. et al. Frequency of seropositive equines for *Theileria equi* in the Southern Rio Grande do Sul State, Brazil. **Parasitologia latinoamericana**, p. 46–50, 2008.

NOGUEIRA, R. DE M. S. et al. Molecular and serological detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1416–1422, dez. 2017.

O’NION, V. L. et al. Potentially Novel *Ehrlichia* Species in Horses, Nicaragua. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 335–338, fev. 2015.

OIE. **Equine Piroplasmosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. Acesso em: 10 jun. 2015.

OIE. **Chater 12.7. Equine Piroplasmosis**. 2007.

OLIVEIRA, P. R. DE. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 33, n. 1, p. 118–122, 2004.

OTOMURA, F. H. et al. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 761–764, jun. 2010.

OTOMURA, F. H. et al. Probability of occurrence of the Brazilian spotted fever in northeast of Paraná state, Brazil. **Resvista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 4, p. 394–400, 2016.

PAROLA, P. et al. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 657–702, 1 out. 2013.



PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 6, p. 897–928, 15 mar. 2001.

PASOLINI, M. P. et al. Inflammatory Myopathy in Horses With Chronic Piroplasmiasis. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 1, p. 133–143, 18 jan. 2018.

PECKLE, M. et al. Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitology Research**, v. 112, n. 5, p. 2017–2025, 2013.

PRADO, L. G. et al. DETECÇÃO DIRETA E EVIDÊNCIA DE EXPOSIÇÃO À *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* EM EQUINOS DE MINAS GERAIS, BRASIL. **Ars Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 57–63, 2017a.

PRADO, L. G. et al. *Anaplasma phagocytophilum* direct detection and exposure evidence in equines from two breeding farms from Minas Gerais State, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, n. 0, 23 ago. 2018.

PRADO, R. F. S. et al. Soroprevalência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em equinos de uso militar no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 72–76, 2017b.

PRATA, M. C. DE A.; ALONSO, L. DA S.; SANAVRIA, A. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 3, n. 2, p. 55–57, 1996.

PROCHNO, H. C. et al. Seroprevalence rates of antibodies against *Theileria equi* in team roping horses from central-western region of Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 1, 2014.

RECK, J. et al. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? **Preventive Veterinary Medicine**, v. 113, n. 1, p. 59–62, 1 jan. 2014.

RIBEIRO, M. F. B. B.; DA SILVEIRA, J. A. G. G.; BASTOS, C. V. Failure of the *Amblyomma cajennense* nymph to become infected by *Theileria equi* after feeding on acute or chronically infected horses. **Experimental Parasitology**, v. 128, n. 4, p. 324–327, ago. 2011.

RIBEIRO, M. F.; COSTA, J. O.; GUIMARÃES, A. M. Epidemiological aspects of *Babesia equi* in horses in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary research communications**, v. 23, n. 6, p. 385–90, out. 1999.

ROBY, T. O. et al. THE HEREDITARY TRANSMISSION OF *BABESIA CABALLI* IN THE TROPICAL HORSE TICK, *DERMACENTOR NITENS* NEUMANN. **American journal of veterinary research**, v. 25, p. 494–9, mar. 1964.

ROCHA, C. M. B. M. DA et al. Perceptions of milk producers from Divinópolis, Minas Gerais, regarding *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* control. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 295–302, dez. 2011.

RODRIGUES, V. DA S. et al. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 3, p. 379–384, mar. 2017.

ROHR, C. L. **Estudos sobre Ixodidas do Brasil**. Rio de Janeiro: Gomes Irmãos & C, 1909.

ROIER, E. C. R. et al. Epidemiological survey of *Neorickettsia risticii* in equids from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 939–946, out. 2016.

ROLIM, M. F. et al. SEROLOGICAL EVIDENCE OF EXPOSURE TO *Anaplasma phagocytophilum* IN HORSES FROM THE RIO DE JANEIRO STATE MOUNTED POLICE BRED IN THE URBAN ZONE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 377–387, set. 2015.

ROTHSCHILD, C. M. Equine piroplasmosis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 7, p. 497–508, 2013.

RUDENKO, N. et al. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 2, n. 3, p. 123–128, set. 2011.

SALEEM, S. et al. Equine Granulocytic Anaplasmosis 28 years later. **Microbial Pathogenesis**, v. 119, p. 1–8, jun. 2018.

SALVAGNI, C. A. et al. Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 135–140, set. 2010.

SANTOS, T. M. DOS et al. Factors associated to *Theileria equi* in equids of two microregions from Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 235–41, set. 2011.

SCHEIN, F. B. et al. Molecular survey and genetic diversity of piroplasmids in equids from Midwestern Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinaria**, v. 27, n. 4, p. 464–472, 2018.

SCHWINT, O. N. et al. Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a susceptible equine host. **Journal of medical entomology**, v. 45, n. 6, p. 1152–5, nov. 2008.

SCOLES, G. A.; UETI, M. W. Vector Ecology of Equine Piroplasmosis. **Annual Review of Entomology**, v. 60, n. 1, p. 561–580, 2015.

SCOLES, G. A; UETI, M. W. *Amblyomma cajennense* is an intrastadial biological vector of *Theileria equi*. **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 306, 2013.

SENEVIRATNA, P.; WEERASINGHE; ARIYADASA, S. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Research in veterinary science**, v. 14, n. 1, p. 112–4, jan. 1973.

SILVEIRA, I. et al. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 62, n. 7, p. 525–533, nov. 2015.

SOCOLOSKI, S. N. G. et al. Epidemiological investigation of *Borrelia burgdorferi* in horses in the municipality of Sinop—MT, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 4, p. 831–836, abr. 2018.

SOUZA, A. P. DE et al. Prevalência de anticorpos anti-*Babesia equi* em equinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 119–121, mar. 2000.

SOUZA, C. E. DE; PINTER, A.; DONALISIO, M. R. Major Article Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin , State of São Paulo , Brazil. v. 48, n. November 2014, p. 11–17, 2015.

SPOLIDORIO, M. G. et al. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 521–523, mar. 2010a.

SPOLIDORIO, M. G. et al. Survey for tick-borne zoonoses in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 1, p. 201–6, jul. 2010b.

STEER, J. A. et al. A Novel Hemotropic Mycoplasma (Hemoplasma) in a Patient With Hemolytic Anemia and Pyrexia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 11, p. e147–e151, 1 dez. 2011.

STUEN, S. *Anaplasma Phagocytophilum* - the Most Widespread Tick-Borne Infection in Animals in Europe. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. S1, p. 79–84, 16 ago. 2007.

SUTHERST, R. W. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 1, p. 136–73, jan. 2004.

SYKES, J. E. Feline hemotropic mycoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 62–69, fev. 2010.

SYKES, J. E. et al. Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3782–5, out. 2010.

SZABÓ, J. et al. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 3, n. July, p. 1–9, 2013.

SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast Brazil: infestations before and after habitat loss. **Journal of medical entomology**, v. 40, n. 3, p. 268–74, maio 2003.

TAMEKUNI, K. et al. Serosurvey of antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp . in horse farms in Northern Paraná , Brazil. v. 2961, p. 259–261, 2010.



TASKER, S. Current concepts in feline haemobartonellosis. **In Practice**, v. 28, n. 3, p. 136–141, 1 mar. 2006.

TOLEDO, R. S. et al. Infection by Spotted Fever Rickettsiae in People, Dogs, Horses and Ticks in Londrina, Parana State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 58, n. 6, p. 416–423, set. 2011.

UENO, T. E. H. et al. Experimental infection of horses with *Rickettsia rickettsii*. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 499, 13 dez. 2016.

UETI, M. W. et al. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3755–9, 1 ago. 2005.

UILENBERG, G. *Babesia*—A historical overview. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 1–2, p. 3–10, 31 maio 2006.

VIANNA, M. C. B. et al. rickettsial Spotted Fever in Capoeirão Village , ITABIRA , Minas Gerais , Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 5, p. 297–301, out. 2008.

VIEIRA, M. I. B. et al. Serological detection and molecular characterization of piroplasms in equids in Brazil. **Acta Tropica**, v. 179, n. September 2017, p. 81–87, mar. 2018a.

VIEIRA, R. F. D. C. et al. SEROLOGICAL SURVEY OF *Ehrlichia* SPECIES IN DOGS, HORSES AND HUMANS: ZOONOTIC SCENERY IN A RURAL SETTLEMENT FROM SOUTHERN BRAZIL. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 5, p. 335–340, set. 2013a.

VIEIRA, R. F. DA C. et al. Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas on human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 4, p. 353–357, ago. 2015a.

VIEIRA, T. S. et al. *Ehrlichia* sp. infection in carthorses of low-income owners, Southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, p. 1–5, out. 2016.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 4, n. 6, p. 537–41, dez. 2013b.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Use of pan-hemoplasma PCR for screening horses highly exposed to tick bites from southern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 291, 27 fev. 2015b.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Potentially Same Novel *Ehrlichia* Species in Horses in Nicaragua and Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 5, p. 953–953, maio 2018b.

WISE, L. N. et al. Review of Equine Piroplasmosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1334–1346, nov. 2013.

XUAN, X. et al. Diagnosis of equine piroplasmosis in Brazil by serodiagnostic methods with recombinant antigens. **The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science**, v. 63, n. 10, p. 1159–60, out. 2001.

YOSHINARI, N. H. et al. Doença de lyme-símile brasileira ou síndrome baggiyoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363–369, 2010.

YPARRAGUIRRE, L. A. et al. A Hard Tick Relapsing Fever Group Spirochete in a Brazilian *Rhipicephalus* ( *Boophilus* ) *microplus*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 4, p. 717–722, dez. 2007.

YUAN, C. L. et al. Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. v. 70, n. 7, 2009.

ZOBBA, R. et al. Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmosis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 5, p. 301–308, 1 maio 2008.

**3. ARTIGO: Tick-borne pathogens in carthorses from Foz do Iguaçu City, Paraná State, southern Brazil: a tri-border area of Brazil, Paraguay and Argentina**

Revista para submissão: Ticks and Tick-borne Diseases.

Jessica D. M. Valente<sup>a</sup>, Anna C. B. Mongruel<sup>a</sup>, Carolina A. L. Machado<sup>a</sup>, Luciana Chiyo<sup>b</sup>, Andre S. Leandro<sup>b</sup>, André S. Britto<sup>b</sup>, Thiago F. Martins<sup>c</sup>, Ivan R. Barros-Filho<sup>a</sup>, Alexander W. Biondo<sup>a</sup>, João H. Perotta<sup>a</sup>, Amanda N. S. Campos<sup>e</sup>, Odilon Vidotto<sup>d</sup>, Marcelo B. Labruna<sup>c</sup>, Daniel M. Aguiar<sup>e</sup>, Thállitha S. W. J. Vieira<sup>a</sup>, Rafael F. C. Vieira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil

<sup>b</sup> Unidade de Vigilância em Zoonoses, Secretaria Municipal de Saúde, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

<sup>e</sup> Laboratório de Virologia e Rickettsioses, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

\*Corresponding author at: Departamento de Medicina Veterinária, Campus Agrárias, Universidade Federal do Paraná, R. dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, 80035-050, Brazil. E-mail address: rvieira@ufpr.br (R.F.C. Vieira).

## Abstract

Tick-borne diseases (TBD) constitute an important group of illness affecting animals and human beings worldwide. In Brazil, carthorses are frequently exposed to ticks and tick-borne pathogens, being limiting factors to the performance of horses and imposing restrictions by the international veterinary authorities for the importation of horses. Accordingly, this study has aimed to i) determine the prevalence of the TBD agents *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Ehrlichia* spp., and hemoplasmas in carthorses, ii) identify the tick species parasitizing the animals, and iii) determine factors associated with exposure/infection in Foz do Iguaçu City, Parana state, southern Brazil. A total of 103 carthorses blood samples were screened for anti-*T. equi* and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies by indirect fluorescent antibody assays (IFA). Samples were also tested by PCR assays targeting the 18S rRNA gene of *T. equi* and *B. caballi*, and 16S rDNA gene of hemoplasmas. Additionally, PCR assays targeting the 16S rDNA, disulfide bond formation protein (*dsb*) and tandem repeat proteins 36 (*trp36*) genes of *Ehrlichia* spp. were also performed. Antibodies to *T. equi* and *Ehrlichia* spp. were detected in 43/103 (41.75%; 95% CI: 32.10-51.88%) and five/103 (4.85%; 95% CI: 1.59-10.97%) horses by IFA, respectively. DNA of *T. equi* and *B. caballi* were found in 25/103 (24.27%) and 10/103 (9.71%) carthorses, respectively, and all tested negative for *Ehrlichia* spp. and hemoplasmas. All sequences showed  $\geq 99\%$  identity with multiple *T. equi* and *B. caballi* 18S rRNA gene sequences deposited in GenBank. A total of 191 *Dermacentor nitens* ticks were collected from 25/103 (24.27%) animals. Carthorses older than 5 years were more likely to be positive for *T. equi* ( $p < 0.05$ ). In conclusion, equine piroplasmosis is highly prevalent in carthorses from Foz do Iguaçu City. The low prevalence of *Ehrlichia* spp. found may be due to the absence of *Amblyomma* ticks infesting animals, which should be further investigated. Hemoplasma infection in horses may be considered accidental or a uncommon infection.

**Keywords:** *Theileria equi*, *Babesia caballi*, *Ehrlichia* spp., hemoplasmas, ticks.

## 1. Introduction

Tick-borne diseases (TBD) constitute an important group of illness affecting animals and human beings worldwide (Vieira et al., 2013; Baneth, 2014; Labruna, X). TBD are caused by a diverse range of pathogens, including species of piroplasms, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Rickettsia*, and others (Vieira et al. 2011; Dziegiel et al. 2013; Souza et al. 2016). In horses, equine piroplasmosis (EP) caused by *Theileria equi* and/or *Babesia caballi*, is the most important group of TBD agents and significantly impacts on horse industry (Friedhoff et al., 1990; OIE, 2017).

Until the last decade, equine granulocytic anaplasmosis (EGA) caused by *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia equi*) was the only TBD caused by ehrlichial species in horses (Dumler et al., 2001). Recently, a potentially novel *Ehrlichia* species was molecularly detected infecting horses from Nicaragua and Brazil (O’Nion et al., 2015; Vieira et al., 2016; Vieira et al., 2018b). However, the impact of the *Ehrlichia* sp. infection in this animal species remains unknown.

Molecular detection of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) has been only described in horses from Germany. The *Mycoplasma* sp. detected was closely related to ‘*Candidatus Mycoplasma haemobos*’ and *Mycoplasma haemofelis* (Dieckmann et al., 2010). Despite previous studies have implicated ticks in the transmission of hemoplasmas (Seneviratna et al., 1973; Neimark et al., 2004), to date there are not enough evidence to support that hemoplasmas are truly a vector-borne pathogen.

Epidemiology of TBD may be influenced by several factors such as urbanization, deforestation, demographic change in developing countries, increased global movement of people and animals, and climate change (Colwell et al., 2011; Dantas-Torres, 2015). Foz do Iguaçu City, Parana State, southern Brazil, is located in the tri-point border of Brazil, Paraguay and Argentina. The city is the third most important tourist destination in this country, due to its

natural resources, flora and fauna diversity and ecotourism activities (Foz do Iguaçu, 2018; Brasil, 2018).

In Brazil, horses are frequently exposed to *Dermacentor nitens*, *Amblyomma cajennense* sensu lato (s.l.) and *Rhipicephalus microplus* ticks (Labruna et al., 2001), and these species have also been reported infesting horses in Paraguay and Argentina (Nava et al., 2007, 2017). In urban areas of Brazil, carthorses have been used by low-income owners to pull carts and move daily throughout the cities to collect recycling materials (Vieira et al., 2013b). Thus, carthorses may be not only used as sentinels for public health but may play an important epidemiological role on spreading ticks and the pathogens they may transmit. Accordingly, the aims of the present study were i) to determine the prevalence of the TBD agents *T. equi*, *B. caballi* and *Ehrlichia* sp., and hemoplasmas in carthorses, ii) to identify the tick species parasitizing the animals, and iii) to determine factors associated with exposure/infection in Foz do Iguaçu city, Parana state, southern Brazil.

## **2. Materials and methods**

This study was approved by the Ethics Committee in Animal Experimentation and Animal Welfare at the Universidade Federal do Parana (UFPR) (protocol number 046/2016) and was conducted according to the ethical principles of animal experimentation, adopted by the Brazilian College of Animal Experimentation.

### *2.1. Study area*

Foz do Iguaçu City is located in the extreme west of Paraná State (25° 32' 45" S 54° 35' 07" W), on the border of Brazil, Argentina and Paraguay. The region presents a subtropical climate with rainfall throughout the year and an average temperature of 22.1 °C (INMET, 2018). Foz do Iguaçu city is internationally recognized by protected areas with native Atlantic

rainforest and diverse fauna, with populations of capuchin monkeys, capybaras, opossums, coatis, as well as a wide variety of birds. This region provides the maintenance of various tick species, to which horses are continually exposed.

## 2.2. Sampling

A total of 103 carthorses (48 males and 55 females) were sampled. Blood samples were collected by venipuncture of the jugular vein using commercial sterile vacuum tubes. Five milliliters were placed into tubes containing EDTA (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Franklin Lakes, NJ, EUA) for PCR analysis and kept at -80 °C until testing. Five milliliters were placed into tubes containing a serum separator gel (BD Vacutainer<sup>®</sup>) and kept at room temperature (25 °C) until visible clot retraction; the samples were then centrifuged at 1500×g for 5 min, serum separated and kept at -20 °C for serological studies.

Packed cell volume (PCV) and total plasmatic protein (TPP) were measured by routine centrifugation and refractometry techniques; a PCV of 0.32 L/L or less, and a TPP of 87.0 g/L or more were used as indicators of anemia and hyperproteinemia, respectively, in the carthorses (Weiss and Wardrop, 2011).

Tick specimens infesting horses were removed using a commercial hook (O'tom/Tick Twister<sup>®</sup>, Lavancia, FRA), and kept in absolute ethanol-labeled tubes for further classification according to morphological taxonomic keys (Barros-Batesti et al., 2006; Martins et al., 2010).

An epidemiological questionnaire was given to each owner addressing age, sex, history of previous tick exposure and presence of ticks at the time of sampling were evaluated. The age of the horses was stratified into groups <5 years, 5–10 years and >10 years (Vieira et al., 2013b).

## 2.3. Detection of anti-*Theileria equi* and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies by indirect immunofluorescent antibody assays (IFA)

Anti-*T. equi* antibodies in carthorse serum samples were evaluated by IFA, as previously described (Vieira et al., 2015a). Samples were considered positive when reacting with dilution  $\geq 1:80$  (Baldani et al., 2010). Titers were determined to the largest dilution in which fluorescence was visualized around the parasite (endpoint titers).

Anti-*Ehrlichia* spp. antibodies in carthorse serum samples were tested by IFA using *E. canis* (São Paulo strain) as antigens, as described elsewhere. Samples were considered positive when reacting with dilution  $\geq 1:40$  (Aguar et al., 2007). Additionally, carthorse serum samples that seroreacted to *E. canis* were also tested by IFA using *E. minasensis* (Cuiabá strain) crude antigens, as previously described (Cabezas-Cruz et al. 2012). Endpoint titers were determined to the largest dilution in which fluorescence was visualized around the bacteria.

#### 2.4. DNA extraction

DNA was extracted from all horse blood samples using a commercially available kit (Illustra™ blood genomicPrep Mini Spin Kit, GE Healthcare, Chalfont, St. Giles, UK), according to the manufacturer's instructions. Negative control purifications using ultra-pure water were performed in parallel to monitor cross-contamination in each batch of 20 samples. A conventional PCR for the horse housekeeping gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was performed to ensure successful DNA extraction, as described elsewhere (Birkenheuer et al., 2003).

#### 2.5. Detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, *Ehrlichia* sp. and hemoplasmas by conventional polymerase chain reaction

Samples were evaluated using PCR with previously described species-specific primers targeting a portion of the 18S rDNA gene of *T. equi* (392 bp) and *B. caballi* (540 bp) (Alhassan et al., 2005). The PCR mixture contained 2.5  $\mu$ L of 10x PCR buffer (Invitrogen, Carlsbad, CA,



USA), 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM of each dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 0.2 uM of each primer, 1.0 U of Platinum<sup>®</sup> Taq DNA polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 5 µL of DNA template made up to 25 µL with water. Cycling conditions consisted of a 1 min denaturation at 94 °C followed by 40 cycles of 94 °C for 30 s, 60 °C (*T. equi*) and 55 °C (*B. caballi*) for 30 s and 72°C for 30 s, with a final extension of 72 °C for 1 min and cooling at 4 °C (SimpliAmp<sup>®</sup> Thermal Cycler, Applied Biosystems<sup>®</sup>, Foster City, CA, USA). Horse samples known to be infected with *T. equi* and *B. caballi*, and nuclease-free water were used as positive and negative control, respectively. The amplified PCR products were subjected to gel electrophoresis in 1.5% agarose gels for 1 h at 100 V, followed by ethidium bromide staining (5 µg/ml), and were viewed under a 312 nm UV light transilluminator.

Samples were also evaluated using PCR with previously described genus-specific primers targeting portions of the 16S rDNA gene (344 bp) (O’Nion et al., 2015), disulfide bond formation protein gene (*dsb*) (349bp) (Almeida et al., 2013), and tandem repeat proteins 36 (*trp36*) gene (Aguiar et al., 2014) of *Ehrlichia* spp. Additionally, samples were screened for hemoplasmas using previously described pan-hemoplasma primers targeting the 16S rDNA gene (~900 bp) (Hoelzle et al., 2011). The PCR mixture contained 2.5 µL of 10x PCR buffer (Invitrogen), 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM of each dNTP, 0.4 mM of each primer, 1.0 U of Platinum<sup>®</sup> Taq DNA polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 5 µL of DNA template made up to 25 µL with water. Cycling conditions consisted of a 3 min denaturation at 94 °C followed by 35 cycles of 94 °C for 45 s, 59 °C for 45 s and 72°C for 90 s, with a final extension of 72 °C for 10 min and cooling at 4 °C (SimpliAmp<sup>®</sup> Thermal Cycler). Cat samples known to be infected with *M. haemofelis* and nuclease-free water were used as positive and negative control, respectively.

## 2.6. Sequencing

A fragment of the 18S rDNA gene from three *T. equi* (~392 bp) and two *B. caballi* (~540bp) isolates were sequenced (Alhassan et al., 2005). PCR products were purified by enzymatic purification (ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent, Thermo Scientific, Waltham, USA), evaluated by spectrophotometry for concentration and purity (NanoDrop™ Spectrophotometers, Thermo Scientific, Waltham, USA), and sequenced in both directions by Sanger method using 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Thereafter, sequences were subjected to BLASTn analysis (Altschul et al., 1990) for determining the identity with the sequences deposited in GenBank® database. The nucleotide sequences of the *T. equi* and *B. caballi* amplified herein were submitted to GenBank database (GenBank accession nos.: MH053402, MH059519 to MH059522).

### 2.7. Statistical Analysis

A non-parametric Mann–Whitney test or a parametric unpaired Student's t test were used to compare the PCV and TPP concentrations between *T. equi* and/or *B. caballi*-infected and non-infected animals. The Chi-square or Fisher's exact test was used to determine the difference between whether individual factors were associated with seropositivity to *T. equi* and *Ehrlichia* spp., or with infection by *T. equi* and *B. caballi*. Odds ratio (OR), 95% confidence interval and *p* values were calculated for each variable. Results considered significantly different when  $p < 0.05$ . Data were compiled and analyzed in Epi Info™ software (version 7.1.5, CDC).

## 3. Results

Anti-*T. equi* antibodies were detected in 43/103 (41.75%; 95% CI: 32.10-51.88%) carthorses by IFA, with antibody titers ranging from 80 to 1280. A total of five/103 (4.85%; 95% CI: 1.59-10.97%) carthorses showed anti-*E. canis* antibodies by IFA, with antibody titers

ranging from 80 to 320. From the total of seropositive animals, three out of five (60.00%) also reacted to *E. minasensis* antigens by IFA, with antibody titers ranging from 320 to 640. Two carthorses were seropositive for *T. equi* and *Ehrlichia* spp. (*E. canis* and *E. minasensis* crude antigens).

All carthorse DNA samples consistently amplified the horse GAPDH gene, ensuring successful DNA extraction. When samples were tested for EP, a total of 25/103 (24.27%; 95% CI: 16.36-33.71%) and 10/103 (9.71%; 95% CI: 4.75-17.13%) carthorses were positive for *T. equi* and *B. caballi* by PCR, respectively. Two out of 103 (1.94%; 95% CI: 0.24-6.84%) carthorses tested PCR-positive for both *T. equi* and *B. caballi*. The prevalence of *T. equi* by IFA and PCR within each variable evaluated were summarized in Table 1. All 103 carthorses tested negative for *Ehrlichia* spp. and hemoplasmas by PCR.

A total of 54/103 (52.43%; 95% CI: 42.35-62.36%) carthorses were anemic. The mean PCV concentration for carthorses was 0.31 L/L (SD±0.04). Association between the mean PCV and positivity to *T. equi* by IFAT ( $p = 0.127$ ), *T. equi* ( $p = 0.205$ ) and *B. caballi* ( $p = 0.979$ ) by PCR was not found. All horses presented normal TPP values, with a mean TPP concentration of 74.6 g/L (SD±5.50).

A total of 191 tick specimens (67 males, 74 females, 44 nymphs and six larvae) were collected from 25/103 (24.27%; 95% CI:16.36-33.71%) carthorses, ranging from one to 42 ticks per animal (mean: 7.64 ticks per animal). All adult and nymph ticks were identified as *D. nitens*. Association between presence of ticks and positivity to *T. equi* by IFA ( $p = 0.051$ ), *T. equi* by PCR ( $p = 0.839$ ), *B. caballi* ( $p = 0.444$ ) and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies ( $p = 0.332$ ) was not found. The prevalence of *B. caballi* and *Ehrlichia* spp. within each variable evaluated were summarized in Table 2.

Carthorses >5 yrs old were more likely to be seropositive to *T. equi* ( $p < 0.05$ ). No significant association was found between sex, anemia or history of previous tick exposure and positivity to *T. equi* ( $p > 0.05$ ) (Table 1).

All *T. equi*-positive samples sequenced showed  $\geq 99\%$  identity with multiple *T. equi* 18S rDNA gene sequences deposited in GenBank database, including isolates from Brazil (GenBank accession nos.: KY952237, KY464033, KX722525) and other countries (GenBank accession nos.: KY111762, KT443892, KX227641, EU888905). *B. caballi*-positive samples sequenced showed  $\geq 99\%$  identity with isolates from Brazil (GenBank accession nos.: KY952236, KY952238) and other regions of the world (GenBank accession nos.: AY534883, MG760622, KU289102, KR527221, KU879021).

#### 4. Discussion

To the author's knowledge, this is the first study to assess serological, molecular and epidemiological data for TBD agents (*T. equi*, *B. caballi* and *Ehrlichia* sp.) in carthorses from Foz do Iguaçu city, a tri-border area of Brazil, Paraguay and Argentina. Herein, 54.42% carthorses were positive for at least one TBD agent, which are widespread in the city (Fig. 1).

In horses, EP caused by *T. equi* and/or *B. caballi*, is the most important group of TBD agents and significantly impacts on horse industry (Friedhoff et al., 1990; OIE, 2017). In the present study, 49.5% carthorses were positive for at least one EP agent when combining IFA and PCR. The association between diagnostic methods improved sensitivity and specificity in the detection of vector-borne pathogens (Maggi et al., 2014; Ferreira et al., 2016), and is recommended for EP diagnosis (Wise et al., 2013). A previous study in carthorses from different regions and biomes (Atlantic Rainforest and Cerrado) of Parana State have found 95% carthorses positive for EP (Vieira et al., 2013b). In Brazil, *T. equi* and *B. caballi* are mainly transmitted by *R. microplus* and *D. nitens*, respectively (Scoles & Ueti, 2015), although some

evidence suggests that *A. sculptum* (published as *A. cajennense*) ticks are associated with *T. equi* infection (Kerber et al., 2009). Herein, 24.2% carthorses were solely infested by *D. nitens* ticks at the time of sampling. Although Foz do Iguaçu City is located in the Atlantic Rainforest biome, *A. cajennense* s.l. ticks have not yet been found infesting horses in the region, which may be due to the high humidity and cooler temperatures during the winter disfavoring the establishment of this tick species (Martins et al., 2016). Additionally, the differences in the prevalence of EP between studies may also be due to the diagnostic test used (IFA vs cELISA) (Vieira et al., 2013b).

In the present study, 24.27% and 9.71% carthorses were PCR-positive to *T. equi* and *B. caballi*, respectively, in agreement with previous studies, which have found that *T. equi* infections are more common than *B. caballi* (Rothschild, 2013). EP is typically responsible for decreasing PCV in 20%, but may fall to 10% or lower (Ambawat et al., 1999; Rothschild, 2013). Herein, although 52.43% horses were anemic, association between anemia and EP was not found ( $p = 0.445$ ). Other important causes of anemia in horses include equine infectious anemia, clostridiosis, toxicosis, immune-mediated hemolytic anemia, and intestinal parasites (Satué et al., 2014), which unfortunately were not evaluated in this study.

Horses > 5 years were more likely to be seropositive to *T. equi* ( $p = 0.004$ ), in agreement with previous studies (Vieira et al., 2013b; Afridi et al., 2017; Ayala-Valdovinos et al., 2017; Montes Cortés et al., 2017; Stefania et al., 2017; Zhang et al., 2017). This finding may be explained since adult animals may have been exposed to ticks for a longer period than young animals, and thus, more likely to be infected by EP agents (Montes Cortés et al., 2017). Moreover, seroprevalence of *T. equi* increases with age, since animals infected with *T. equi* can become lifelong carriers (Scoles & Ueti, 2015), while infection with *B. caballi* is self-limiting, lasting up to 4 years after infection (Holbrook, 1969).

A potentially novel *Ehrlichia* species have been molecularly detected infecting horses from Nicaragua and Brazil (O’Nion et al., 2015; Vieira et al., 2016; Vieira et al., 2018b), and serological evidences suggest that an ehrlichial agent is circulating in horses from Brazil (Vieira et al., 2013a; Vieira et al., 2016) and USA (Duell et al., 2013; Carmichael et al., 2014). Herein, although all carthorses tested negative by PCR assays targeting 16S rDNA, *dsb* and *trp36* genes of *Ehrlichia* sp., 4.85% (5/103) animals reacted to *E. canis* (titers ranging from 80 to 320), and three out of the seropositive ones also reacted to *E. minasensis* crude antigens (titers ranging from 320 to 640). Previous studies with *Ehrlichia* sp. in Brazilian horses have found seroprevalence rates ranging from 27.4% to 62.5%, with seropositive animals presenting higher antibody titers to *E. canis* (titers ranging from 64 to 8192) than to *E. chaffeensis* (titers ranging from 128 to 4096) crude antigens by IFA (Vieira et al. 2013a, Vieira et al. 2016). It is important to state that higher seroprevalence rates of *Ehrlichia* sp. in horses have been found in areas where *Amblyomma* ticks are present (Duell et al., 2013; Vieira et al. 2013a; Carmichael et al., 2014; Vieira et al. 2016), which may explain the low prevalence found in the present study, and reinforces that ticks from this genus may be involved in the transmission of this ehrlichial agent. Moreover, phylogenetic analysis of the partial sequences of the 16S rDNA, *sodB* and *groEL* genes revealed that the potentially novel *Ehrlichia* sp. found in horses was closely related to *E. ruminantium* and distant from *E. canis*, *E. chaffeensis* and *E. minasensis* (O’Nion et al. 2015, Vieira et al. 2018). Considering that cross-reaction between *Ehrlichia* spp. is a common finding when using serological assays (Holland et al., 1985; O’Connor et al., 2006; Hegarty et al., 2009; Vieira et al., 2016), a multi-modal approach should always be performed in horses as to increase the odds of finding and further characterizing this emerging ehrlichial agent, as previously suggested (Vieira et al., 2016).

To date, hemoplasmas have only been reported in horses from Germany (Dieckmann et al., 2010). In the present study, all horses were negative for hemoplasmas. Along with previous

studies, a total of 436 horses (clinically healthy, anemic and/or infested by ticks) from different biomes of Brazil have been screened for hemoplasmas and all tested negative by PCR (Vieira et al. 2015a; Vieira et al. 2015b; Ferreira et al., 2016). Considering that the *Mycoplasma* sp. detected in horses from Germany was closely related to ‘*Ca. M. haemobos*’ and *M. haemofelis* (Dieckmann et al., 2010), typically found in cattle and cats respectively, hemoplasma infection in horses may be considered accidental or a uncommon infection.

In conclusion, EP is highly prevalent in carthorses from Foz do Iguaçu City. The low prevalence of *Ehrlichia* sp. found may be due to the absence of *Amblyomma* ticks infesting animals, which should be further investigated. Hemoplasma infection in horses may be considered accidental or a uncommon infection.

### **Conflict of interests**

The authors declared no conflict of interest.

### **Acknowledgements**

This study is part of a Master’s degree for Jessica Valente at the Universidade Federal do Paraná. Dr. Valente and Dr. Mongruel were sponsored by a fellowship from the Brazilian National Council of Scientific and Technological Development (CNPq) at the time of research. CNPq also provided a fellowship of research productivity (PQ) to Dr. Rafael Vieira.

### **References**

- Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Pinter, A., Gennari, S.M., Camargo, L.M.A., Labruna, M.B., 2007. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. J. Med. Entomol. 44, 126–32.

- Aguiar, D.M., Ziliani, T.F., Zhang, X., Melo, A.L.T., Braga, Í.A., Witter, R., Freitas, L.C., Rondelli, A.L.H., Luis, M.A., Sorte, E.C.B., Jaune, F.W., Santarém, V.A., Horta, M.C., Pescador, C.A., Colodel, E.M., Soares, H.S., Pacheco, R.C., Onuma, S.S.M., Labruna, M.B., McBride, J.W., 2014. A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 5, 537–544. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.03.010
- Aguirre, D.H., Cafrune, M.M., Rada, M., Torioni de Echade, S., 2004. BABESIOSIS CLÍNICA EN EQUINOS DE CERRILLOS, SALTA, ARGENTINA. *Rev. Investig. Agropecu.* 33, 123–133.
- Al-Adhami, B., Scandrett, W.B., Lobanov, V.A., Gajadhar, A.A., 2011. Serological cross-reactivity between *Anaplasma marginale* and an *Ehrlichia* species in naturally and experimentally infected cattle. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 23, 1181–1188. doi:10.1177/1040638711425593
- Alhassan, A., Pumidonming, W., Okamura, M., Hirata, H., Battsetseg, B., Fujisaki, K., Yokoyama, N., Igarashi, I., 2005. Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. *Vet. Parasitol.* 129, 43–49. doi:10.1016/j.vetpar.2004.12.018
- Allsopp, M.T.E.P., Lewis, B.D., Penzhorn, B.L., 2007. Molecular evidence for transplacental transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. *Vet. Parasitol.* 148, 130–136. doi:10.1016/j.vetpar.2007.05.017
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J., 1990. Basic local alignment search tool 215, 403–410. doi:10.1016/S0022-2836(05)80360-2
- Ambawat, H.K., Malhotra, D. V, Kumar, S., Dhar, S., 1999. Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in *Babesia equi* infection experimentally produced in donkeys. *Vet. Parasitol.* 85, 319–24.



- Baldani, C.D., Nakaghi, A.C.H., Machado, R.Z., 2010. Occurrence of *Theileria equi* in horses raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal 19, 228–232.
- Baneth, G., 2014. Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. *Int. J. Parasitol.* 44, 591–596. doi:10.1016/J.IJPARA.2014.03.011
- Barros-Battesti, D.M., Arzua, M., Bechara, G.H., 2006. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo.
- Birkenheuer, A.J., Levy, M.G., Breitschwerdt, E.B., 2003. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4172–7.
- Brasil. Caracterização e dimensionamento do turismo internacional no Brasil – 2013-2017. *Destinos mais visitados*. São Paulo: Ministério do Turismo, 2018.
- Brouqui, P., Dumler, J.S., Raoult, D., Walker, D.H., 1992. Antigenic characterization of ehrlichiae: protein immunoblotting of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia sennetsu*, and *Ehrlichia risticii*. *J. Clin. Microbiol.* 30, 1062–6.
- Brüning, A., 1996. Equine piroplasmiasis an update on diagnosis, treatment and prevention. *Br. Vet. J.* 152, 139–51.
- Carmichael, R.C., Duell, J.R., Holbrook, T.C., Herrin, B.H., Leutenegger, C.M., O'Connor, T.P., Little, S.E., 2014. Antibodies Reactive to *Ehrlichia* spp. are common in Oklahoma Horses. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 14, 552–556. doi:10.1089/vbz.2013.1570
- Caro, R.R., 2003. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN EQUINOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA. *Vet. Argentina* 20, 671–684.
- Cruz, A.C., Zweygarth, E., Ribeiro, M.F.B., da Silveira, J.A.G., de la Fuente, J., Grubhoffer, L., Valdés, J.J., Passos, L.M.F., 2012. New species of *Ehrlichia* isolated from

- Rhipicephalus (Boophilus) microplus* shows an ortholog of the *E. canis* major immunogenic glycoprotein gp36 with a new sequence of tandem repeats. *Parasit. Vectors* 5, 291. doi:10.1186/1756-3305-5-291
- Dantas-Torres, F., 2015. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 4, 452–461. doi:10.1016/j.ijppaw.2015.07.001
- Dieckmann, S.M., Winkler, M., Groebel, K., Dieckmann, M.P., Hofmann-Lehmann, R., Hoelzle, K., Wittenbrink, M.M., Hoelzle, L.E., 2010. Haemotrophic Mycoplasma infection in horses. *Vet. Microbiol.* 145, 351–3. doi:10.1016/j.vetmic.2010.04.009
- Guimarães, J.H., Battesti, D.M.B., Tucci, E.C., Guimarães, J. H., Tucci, E. C. Barros-Battesti, D.M., 2001. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. Plêiade, São Paulo.
- Hegarty, B.C., de Paiva Diniz, P.P.V., Bradley, J.M., Lorentzen, L., Breitschwerdt, E., 2009. Clinical Relevance of Annual Screening Using a Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (SNAP 3Dx) for Canine Ehrlichiosis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 45, 118–124. doi:10.5326/0450118
- Holbrook AA. 1969. Biology of equine piroplasmiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155:453-4.
- Kerber, C.E., Labruna, M.B., Ferreira, F., De Waal, D.T., Knowles, D.P., Gennari, S.M., 2009. Prevalence of equine Piroplasmiasis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. *Brazilian J. Vet. Parasitol.* 18, 1–8.
- Labruna, M.B., Kerber, C.E., Ferreira, F., Faccini, J.L.H., De Waal, D.T., Gennari, S.M., 2001. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 97, 1–14. doi:10.1016/S0304-4017(01)00387-9
- Mahan, S.M., Tebele, N., Mukwede, D., Semu, S., Nyathi, C.B., Wassink, L.A., Kelly, P.J., Peter, T., Barbet, A.F., 1993. An immunoblotting diagnostic assay for heartwater based on the immunodominant 32-kilodalton protein of *Cowdria ruminantium* detects false

- positives in field sera. J. Clin. Microbiol. 31, 2729–37.
- Martins, T.F., Onofrio, V.C., Barros-Battesti, D.M., Labruna, M.B., 2010. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. Ticks Tick. Borne. Dis. 1, 75–99. doi:10.1016/j.ttbdis.2010.03.002
- Montes Cortés, M.G., Fernández-García, J.L., Habela Martínez-Estélez, M.Á., 2017. Seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Spain. Parasite 24, 14. doi:10.1051/parasite/2017015
- Mujica, F.F., Perrone, T., Forlano, M., Coronado, A., Meléndez, R.D., Barrios, N., Álvarez, R., Granda, F., 2011. Serological prevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses of Lara State, Venezuela. Vet. Parasitol. 178, 180–183. doi:10.1016/j.vetpar.2010.12.036
- Nava, S., Lareschi, M., Rebollo, C., Benítez Usher, C., Beati, L., Robbins, R.G., Durden, L.A., Mangold, A.J., Guglielmone, A.A., 2007. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Paraguay. Ann. Trop. Med. Parasitol. 101, 255–270. doi:10.1179/136485907X176319
- Nava, S., Venzal, J., Acuña, D.G., Martins, T., Guglielmone, A., 2017. Ticks of the Southern Cone of America : diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance, 1<sup>a</sup>. ed. Elsevier, London.
- O’Nion, V.L., Montilla, H.J., Qurollo, B.A., Maggi, R.G., Hegarty, B.C., Tornquist, S.J., Breitschwerdt, E.B., 2015. Potentially Novel *Ehrlichia* Species in Horses, Nicaragua. Emerg. Infect. Dis. 21, 335–338. doi:10.3201/eid2102.140290
- Peckle, M., Pires, M.S., Dos Santos, T.M., Roier, E.C.R., Da Silva, C.B., Vilela, J.A.R., Santos, H.A., Massard, C.L., 2013. Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Parasitol. Res. 112, 2017–2025. doi:10.1007/s00436-013-3360-0
- Rosales, R., Rangel-Rivas, A., Escalona, A., Jordan, L.S., Gonzatti, M.I., Aso, P.M., Perrone, T., Silva-Iturriza, A., Mijares, A., 2013. Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi*

- infections in Venezuelan horses using Competitive-Inhibition ELISA and PCR. *Vet. Parasitol.* 196, 37–43. doi:10.1016/j.vetpar.2013.02.004
- Rothschild, C.M., 2013. Equine piroplasmosis. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 497–508. doi:10.1016/j.jevs.2013.03.189
- Sant, C., d'Abadie, R., Pargass, I., Basu, A.K., Asgarali, Z., Charles, R.A., Georges, K.C., 2016. Prospective study investigating transplacental transmission of equine piroplasmosis in thoroughbred foals in Trinidad. *Vet. Parasitol.* 226, 132–137. doi:10.1016/j.vetpar.2016.07.008
- Santos, T.M. dos, Roier, E.C.R., Santos, H.A., Pires, M.S., Vilela, J.A.R., Moraes, L.M. de B., Almeida, F.Q. De, Baldani, C.D., Machado, R.Z., Massard, C.L., 2011. Factors associated to *Theileria equi* in equids of two microregions from Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20, 235–41. doi:10.1590/S1984-29612011000300011
- Scoles, G.A., Ueti, M.W., 2015. Vector Ecology of Equine Piroplasmosis. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 561–580. doi:10.1146/annurev-ento-010814-021110
- Scoles, G.A., Hutcheson, H.J., Schlater, J.L., Hennager, S.G., Pelzel, A.M., Knowles, D.P., 2011. Equine piroplasmosis associated with *Amblyomma cajennense* Ticks, Texas, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1903–5. doi:10.3201/eid1710.101182
- Souza, E.B.C. de, 2017. Tourism as Regional Integrator in the Tri-Cities of Foz do Iguaçu (Brazil), Ciudad del Este (Paraguay) and Puerto Iguazú (Argentina). *Cuad. Geogr. - Rev. Colomb. Geogr.* 26, 355–371. doi:10.154467rcdg.v26n2.56843
- Tarragona, E.L., Sebastian, P.S., Saracho Bottero, M.N., Martinez, E.I., Debárbora, V.N., Mangold, A.J., Guglielmone, A.A., Nava, S., 2018. Seasonal dynamics, geographical range size, hosts, genetic diversity and phylogeography of *Amblyomma sculptum* in Argentina. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 9, 1264–1274. doi:10.1016/J.TTBDIS.2018.04.009
- Vieira, R.F. da C., Vieira, T.S.W.J., Nascimento, D. do A.G., Martins, T.F., Krawczak, F.S.,

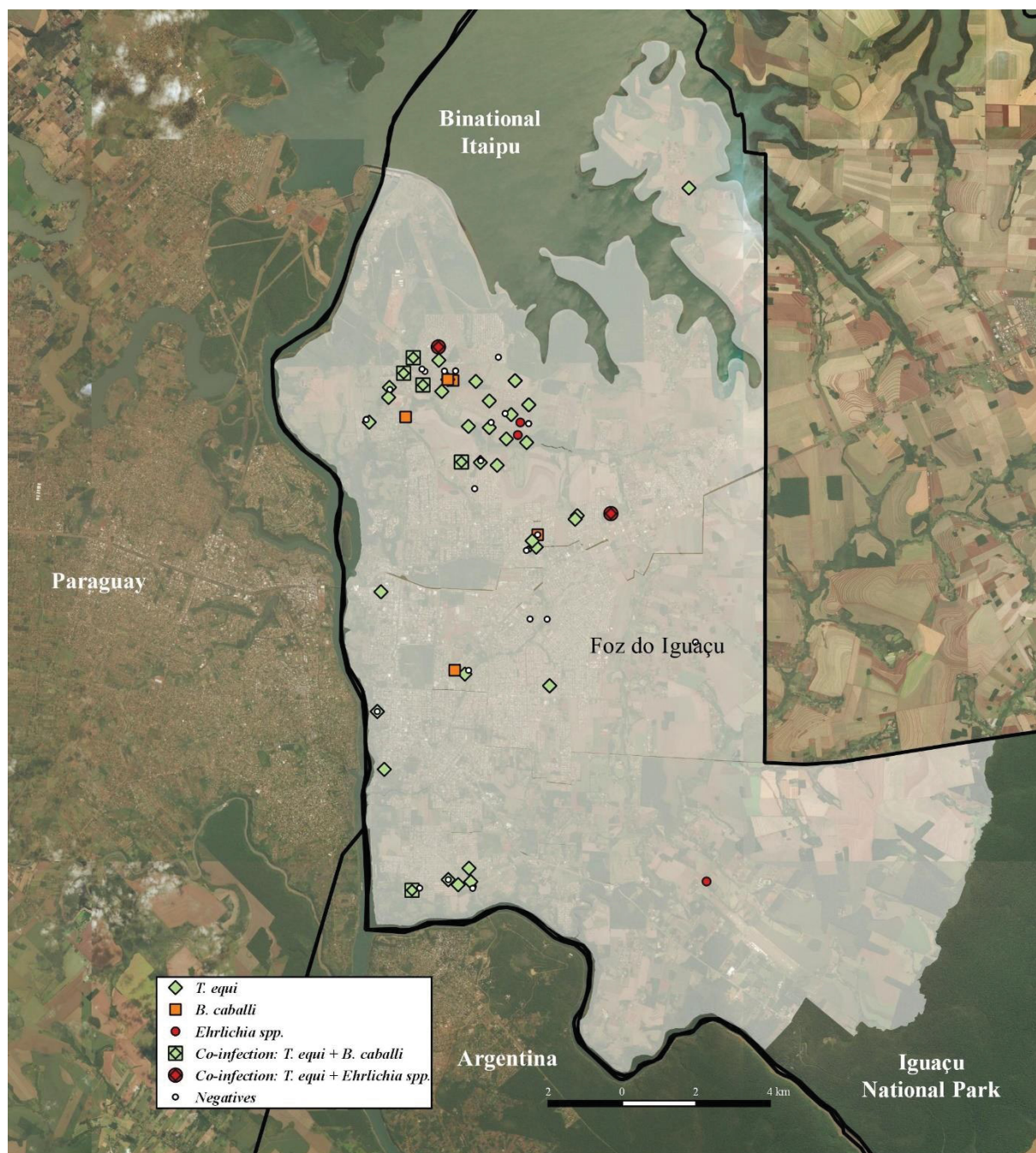
- Labruna, M.B., Chandrashekar, R., Marcondes, M., Biondo, A.W., Vidotto, O., 2013. SEROLOGICAL SURVEY OF *Ehrlichia* SPECIES IN DOGS, HORSES AND HUMANS: ZOONOTIC SCENERY IN A RURAL SETTLEMENT FROM SOUTHERN BRAZIL. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 55, 335–340. doi:10.1590/S0036-46652013000500007
- Vieira, T.S., Vieira, R.F., Krawczak, F.S., Soares, H.S., Guimarães, A.M., Barros-Filho, I.R., Marcondes, M., Labruna, M.B., Biondo, A.W., Vidotto, O., 2016. *Ehrlichia* sp. infection in carthorses of low-income owners, Southern Brazil. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 48, 1–5. doi:10.1016/j.cimid.2016.07.002
- Vieira, T.S.J.W., Valente, J.D.M., Silva, N.B., Sicupira, P.M.L., Barros-filho, I.R., Biondo, A.W., Vieira, R.F. da C., Vidotto, O., 2015. Comparative study of two serological tests for detection of anti-*Theileria equi* antibodies in horses. *Semin. Ciências Agrárias* 36, 4361–4364. doi:10.5433/1679-0359.2015v36n6Supl2p4361
- Vieira, T.S.W.J., Qurollo, B.A., Mongruel, A.C.B., Baggio, R.A., Vidotto, O., Breitschwerdt, E.B., Vieira, R.F.C., 2018. Potentially Same Novel *Ehrlichia* Species in Horses in Nicaragua and Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 24, 953–953. doi:10.3201/eid2405.172076
- Vieira, T.S.W.J., Vidotto, O., Guimarães, A.M.S., Santos, A.P., Nascimento, N.C., Finger, M.A.P., Barros-Filho, I.R., Dornbusch, P.T., Biondo, A.W., Vieira, R.F.C., Messick, J.B., 2015. Use of pan-hemoplasma PCR for screening horses highly exposed to tick bites from southern Brazil. *Semin. Ciências Agrárias* 36, 291. doi:10.5433/1679-0359.2015v36n1p291
- Vieira, T.S.W.J., Vieira, R.F.C., Finger, M.A.P., Nascimento, D.A.G., Sicupira, P.M.L., Dutra, L.H., Deconto, I., Barros-Filho, I.R., Dornbusch, P.T., Biondo, A.W., Vidotto, O., 2013. Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 4, 537–41.

doi:10.1016/j.ttbdis.2013.07.005

Weiss, D.J., Wardrop, K.J., 2011. Schalm's Veterinary Hematology, 6th ed. John Wiley & Sons, 2011.

Wise, L.N., Kappmeyer, L.S., Mealey, R.H., Knowles, D.P., 2013. Review of Equine Piroplasmosis. J. Vet. Intern. Med. 27, 1334–1346. doi:10.1111/jvim.12168





**Figure 1.** Map of Foz do Iguaçu City (Paraná state, southern Brazil) showing the location of carthorses sampled and tick-borne diseases occurrence.

**Table 1.** Prevalence of *T. equi* in carthorses within each variable studied, Paraná state, southern Brazil.

Variable	T. equi – PCR					T. equi – IFAT					
	+/n	(%)	OR	95% CI	P-value	+/n	(%)	OR	95% CI	P-value	
Age*	>10	6/22	27.27	2.7188	0.67-11.07	0.175	12/22	54.55	3.7500	1.18-11.92	0.022
	5-10	16/43	37.21	4.2963	1.27-14.47	0.018	23/43	53.49	3.5938	1.33-9.73	0.010
	<5	4/33	12.12				8/33	24.24			
Sex	Male	13/48	27.08	1.2000	0.49-2.92	0.688	21/48	43.75	1.1667	0.53-2.55	0.700
	Female	13/55	23.64				22/55	40.00			
Anemia	Yes	13/54	24.07	0.8780	0.36-2.13	0.774	20/54	37.04	0.6650	0.30-1.46	0.309
	No	13/49	26.53				23/49	46.94			
History of tick bite	Yes	12/54	22.22	0.7143	0.29-1.74	0.459	22/54	40.74	0.9167	0.42-2.00	0.828
	No	14/49	28.57				21/49	42.86			
Presence of Ticks	Yes	10/25	40.00	2.5833	0.98-6.82	0.051	10/25	40.00	0.9091	0.36-2.27	0.839
	No	16/78	20.51				33/78	42.31			

+, Number of positive animals; n, number of samples; 95% CI, 95% confidence interval. \*No age data of five animals.



**Table 2.** Prevalence of *B. caballi* and *Ehrlichia* spp. in carthorses within each variable studied, Paraná state, southern Brazil.

Variable	<i>B. caballi</i> – PCR						<i>Ehrlichia</i> spp. – IFAT					
	+/n	(%)	OR	95% CI	P-value	+/n	(%)	OR	95% CI	P-value		
Age*	>10	1/22	4.55	0.3452	0.03-3.31	0.638	3/22	13.64	-	-	0.059	
	5-10	3/43	6.98	0.5438	0.11-2.62	0.460	2/43	4.65	-	-	0.502	
	<5	4/33	12.12				0/33	00.00				
Sex	Male	4/48	8.33	0.7424	0.20-2.80	0.747	2/48	4.17	0.7536	0.12-4.71	1.000	
	Female	6/55	10.91				3/55	5.45				
Anemia	Yes	4/54	7.41	0.5733	0.15-2.17	0.512	1/54	1.85	0.2123	0.02-1.97	0.189	
	No	6/49	12.24				4/49	8.16				
History of tick bite	Yes	3/54	5.56	0.3529	0.08-1.45	0.187	1/54	1.85	0.2123	0.02-1.97	0.189	
	No	7/49	14.29				4/49	8.16				
Presence of Ticks	Yes	1/25	4.00	0.3194	0.04-2.65	0.444	0/25	0.00	-	-	0.332	
	No	9/78	11.54				5/78	6.41				

+, Number of positive animals; n, number of samples; 95% CI, 95% confidence interval. \*No age data of five animals.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, doenças transmitidas por carrapatos em equinos têm sido relatadas, porém em algumas regiões esses dados ainda são escassos. Esse é o primeiro estudo de DTCs e fatores associados realizado em equinos carroceiros de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. A piroplasmose equina é considerada endêmica no Brasil, cuja prevalência dessa doença na população aqui estudada também foi considerada alta. Entretanto, *Ehrlichia* sp. foi identificado apenas por diagnóstico sorológico e a prevalência baixa pode ter sido devido à ausência de carrapatos *Amblyomma* infestando animais. A infecção por hemoplasma em cavalos, não detectada ainda no Brasil, pode ser considerada acidental ou uma infecção incomum. Por fim, os equinos podem desempenhar um papel importante na epidemiologia de DTCs sejam zoonóticos ou não, portanto diferentes populações com diferentes riscos associados devem ser investigadas.

## REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. DA. Notas de ixodologia: VII - *Otocentor nitens* Neuman, 1897) versus *Anocentor columbianus* Schulze, 1937 e comentários sobre a rápida disseminação desse ixodideo no Brasil (Acari: Ixodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 51, n. 0, p. 499–501, dez. 1953.
- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. DA. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, n. 2, p. 115–129, 1961.
- ARSNOE, I.; TSAO, J. I.; HICKLING, G. J. Nymphal *Ixodes scapularis* questing behavior explains geographic variation in Lyme borreliosis risk in the eastern United States. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 19 jan. 2019.
- BALDANI, C. D. et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against *Babesia equi* in horses. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1525–1529, out. 2004.
- BALDANI, C. D. et al. Production of recombinant EMA-1 protein and its application for the diagnosis of *Theileria equi* using an enzyme immunoassay in horses from São Paulo State, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 20, n. 1, p. 54–60, jan. 2011.
- BALDANI, C. D.; NAKAGHI, A. C. H.; MACHADO, R. Z. Occurrence of *Theileria equi* in horses raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 19, n. 4, p. 228–232, 2010.
- BARBIERI, A. R. M. et al. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 848–853, 1 out. 2014.
- BARBOSA, I. P. et al. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 58, n. 1–2, p. 1–8, maio 1995.
- BARLOUGH, J. E. et al. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: Juga spp.) from northern California. **Applied and environmental microbiology**, v. 64, n. 8, p. 2888–93, ago. 1998.
- BARROS, E. M. et al. Detecção de *Theileria equi* e *Babesia caballi* e anticorpos anti-*Ehrlichia* spp. em equídeos do Pantanal Mato-Grossense, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 63, n. 3, 2015.
- BATISTA, F. G. et al. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 19, n. 4, p. 205–209, 2010.
- BATTSETSEG, B. et al. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. **Veterinary parasitology**, v. 107, n. 4, p. 351–7, 22 ago. 2002.

BORGES, L. M. F.; LEITE, R. C. Comparação entre as populações auriculares e nasais de *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) oriundas de equinos de Minas Gerais e Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 109–110, 1993.

BORGES, L. M. F.; SILVA, C. R. F. DA. IXODÍDEOS PARASITOS DE BOVINOS E EQUINOS DA MICRORREGIÃO DE GOIÂNIA, GOIÁS. **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 1, 1994.

BORGES, L. M.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, M. F. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 89, n. 3, p. 165–71, 28 abr. 2000.  
BOTTEON, P. DE T. L. et al. Seroprevalencia de *Babesia equi* en tres diferentes sistemas de crianza de equinos: Rio de Janeiro - Brasil. **Parasitología latinoamericana**, v. 57, n. 3–4, p. 141–145, jul. 2002.

BRASIL. FEBRE MACULOSA - CASOS CONFIRMADOS NOTIFICADOS NO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO - BRASIL. Disponível em:  
<<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29878153>>.  
Acesso em: 5 fev. 2019.

BULLOCK, P. M. et al. *Ehrlichia equi* infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 14, n. 3, p. 252–7, 2000.

CABEZAS-CRUZ, A. et al. *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1426–1430, 1 mar. 2016.

CAMPOS, C. H. C. DE et al. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E SOROPREVALÊNCIA DE *Theileria equi* EM EQUINOS DE USO MILITAR NO MUNICÍPIO DE RESENDE, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL. **Revista brasileira de medicina veterinária**, v. 35, n. 2, p. 106–112, 2013.

COIMBRA, H. S. et al. *NEORICKETTSIA (EHRlichia) RISTICII* NO SUL DO BRASIL: *HELEOBIA* SPP. (MOLLUSCA: HYDROBILIDAE) E *PARAPLEUROLOPHOCECOUS CERCARIAE* (TREMATODA: DIGENEA) COMO POSSÍVEIS VETORES. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n.3, p.325-329, jul./set., 2005.

COIMBRA, H. S. et al. Ehrlichiose monocítica equina no Rio Grande do Sul: aspectos clínicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 97–101, jun. 2006.

COIMBRA, H. S. et al. Pesquisa de trematódeos digenéticos em *Heleobia* spp. (Mollusca: Hydrobiidae) em área de ocorrência da Ehrlichiose monocítica equina, no Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 266–272, set. 2013.

COOLEY, R. A.; KOHLS, G. M. The genus *Amblyomma* (Ixodidae) in the United States.

**Journal of Parasitology**, v. 30, n. 2, p. 77–111, 1944.

CORDEIRO, M. D. et al. Frequência de anticorpos da classe IgG anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica. **Revista brasileira de medicina veterinária**, v. 37, n. 1, p. 78–82, 2015.

COSTA, R. L. et al. Molecular investigation of *Neorickettsia risticii* in trematodes and snails in a region with serological evidence of this agent in horses, state of Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1470–1478, dez. 2016.

COSTA, S. et al. Genetic diversity of piroplasmids species in equids from island of São Luís, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 3, 2017.

CUNHA, A. P. DA et al. Controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (acarí: xodidae) em eqüinos, Minas Gerais, Brasil - Parte I. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 4, p. 221–228, dez. 2007.

CUNHA, N. C. DA et al. Rickettsiae of the Spotted Fever group in dogs, horses and ticks: an epidemiological study in an endemic region of the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 36, n. 3, 2014.

DA SILVA, N. B. et al. First report of *Anaplasma marginale* infection in goats, Brazil. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202140, 13 ago. 2018.

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437–446, 1 out. 2012.

DE SOUSA, S. H. et al. *Theileria equi* infection causing abortion in a mare in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 8, p. 113–116, 1 maio 2017.

DE WAAL, D. T.; VAN HEERDEN, J. No Title. In: **Coetzer JAW, ed. Equine Babesiosis in Infectious Diseases of Livestock**. 2. ed. Cape Town, South Africa: Oxford University Press, 2004.

DIECKMANN, S. M. et al. Haemotrophic Mycoplasma infection in horses. **Veterinary microbiology**, v. 145, n. 3–4, p. 351–3, 26 out. 2010.

DOMINGUEZ, M. et al. Equine disease events resulting from international horse movements: Systematic review and lessons learned. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 5, p. 641–653, set. 2016.

DÓRIA, R. G. S. et al. Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 8, p. 724–730, 2016.

DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and

Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 1 nov. 2001.

DUTRA, F. et al. Equine Monocytic Ehrlichiosis (Potomac Horse Fever) in Horses in Uruguay and Southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 5, p. 433–437, 25 set. 2001.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

FERRÃO, C. M.; ABOUD-DUTRA, A. E.; GAZÊTA, G. S. Equine Monocytic Ehrlichiosis (EME) in Rio de Janeiro State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1575–1578, dez. 2007.

FERREIRA, C. G. T.; BEZERRA, A. C. D. S.; AHID, S. M. M. Ectoparasitas de cães do Município de Apodi, Rio Grande do Norte, Brasil. **PUBVET**, v. 4, n. 14, 2010.

FERREIRA, E. P. et al. Serological and molecular detection of *Theileria equi* in sport horses of northeastern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 47, p. 72–76, 2016.

FREITAS, M. C. D. DE O. et al. Brazilian spotted fever in cart horses in a non-endemic area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, 2010.

FRIEDHOFF, K. T.; TENTER, A. M.; MÜLLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 9, n. 4, p. 1187–94, dez. 1990.

GALO, K. R. et al. Frequência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em eqüinos na mesorregião metropolitana de Belém, Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 229–232, mar. 2009.

GOLYNSKI, A. A. et al. Estudo soroepidemiológico da *Babesia equi* em equinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, determinado pelos testes de imunofluorescência indireta e Elisa. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 317–321, 2008.

GONÇALVES, D. D. et al. First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Parana (Brazil). **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 44, n. 3, p. 883–7, 2013.

GRETILLAT, S. L'hémobartonellose equine au Niger. **Académie Vétérinaire de France**, v. 51, p. 351–358, 1978.

GUIMARÃES, A. M. et al. Prevalence and risk factors of *Theileria equi* infection in horses in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 3–4, p. 18–22, 1 jun. 2016.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M. F. B. Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v. 84, n. 4, p. 323–327, 1998.

HAUSBERGER, M. et al. A review of the human–horse relationship. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 109, n. 1, p. 1–24, 1 jan. 2008.

HEIM, A. et al. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. **Parasitology research**, v. 102, n. 1, p. 63–8, dez. 2007.

HEUCHERT, C. M. et al. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 85, n. 1, p. 1–11, 16 ago. 1999.

HORTA, M. C. et al. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 71, n. 1, p. 93–7, jul. 2004.

HORTA, M. C. et al. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793–801, nov. 2007.

HUANG, X. et al. Immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of *Babesia caballi* and *B. equi* infections in horses. **Clinical and vaccine immunology : CVI**, v. 13, n. 5, p. 553–5, maio 2006.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal: Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2017.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129 Suppl, p. S3–14, 2004.

KALLICK, C. A. SPECIFIC BACTERIAL INCLUSIONS IN BONE MARROW CELLS INDICATE SYSTEMATIC LUPUS ERYTHEMATOSUS, AND TREATMENT FOR LUPUS. **US patent, 2007, WO 2007/019415 A2**, 2007.

KERBER, C. E. et al. Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 18, n. 4, p. 1–8, jan. 2009.

LABRUNA, M. B. et al. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 1–14, 2001.



- LABRUNA, M. B. et al. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 105, n. 1, p. 65–77, 19 abr. 2002.
- LABRUNA, M. B.; AMAKU, M. Rhythm of engorgement and detachment of *Anocentor nitens* females feeding on horses. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 3–4, p. 316–332, 30 abr. 2006.
- LEAL, D. C. et al. Evaluation of PCR and multiplex PCR in relation to nested PCR for diagnosing *Theileria equi*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 7, p. 575–578, 2011.
- MADIGAN, J. E. et al. Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic ehrlichia. **Journal of clinical microbiology**, v. 34, n. 2, p. 434–5, fev. 1996.
- MAGNARELLI, L. A. et al. Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 7, p. 1045–50, 1 out. 2000.
- MANS, B. J.; PIENAAR, R.; LATIF, A. A. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n. 1, p. 104–118, 2015.
- MANTOVANI, E. et al. Amplification of the flgE gene provides evidence for the existence of a Brazilian borreliosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, n. 3, p. 153–158, jun. 2012.
- MARTINS, T. F. et al. Ocorrência de carrapatos em animais silvestres recebidos e atendidos pelo Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 4, p. 319, 10 dez. 2015.
- MEDEIROS, A. P. et al. Antibodies against rickettsiae from spotted fever groups in horses from two mesoregions in the state of Santa Catarina, Brazil. p. 1713–1719, 2013.
- MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. **Parasitology research**, v. 84, n. 6, p. 467–75, jun. 1998.
- MESSICK, J. B. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 33, n. 1, p. 2–13, 2004.
- MILAGRES, B. S. et al. *Rickettsia* in Synanthropic and Domestic Animals and Their Hosts from Two Areas of Low Endemicity for Brazilian Spotted Fever in the Eastern Region of Minas Gerais, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 6, p. 1305–1307, 6 dez. 2010.
- MONTANDON, C. E. et al. Evidence of *Borrelia* in wild and domestic mammals from the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 287–290, jun. 2014.



MORAES-FILHO, J. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos do Centro de Controle de Zoonoses domunicípio de São Paulo (CCZ/SP). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 2, 2009.

MOREIRA, L. M. C. et al. Frequency of Equine Monocytic Ehrlichiosis (EME) in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 697–699, jun. 2013.

NASCIMENTO, D. A. G. et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 25, n. 4, p. 418–422, 2016.

NEIMARK, H. et al. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of “*Candidatus Mycoplasma haemofelis*”, “*Candidatus Mycoplasma haemomuris*”, “*Candidatus Mycoplasma haemosuis*” and “*Candidatus Mycoplasma wenyonii*”. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 51, n. 3, p. 891–899, 1 maio 2001.

NEIMARK, H. et al. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 683–683, 1 mar. 2002.

NIERI-BASTOS, F. A. et al. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 2, p. 1–3, 2014.

NIZOLI, L. Q. et al. Frequency of seropositive equines for *Theileria equi* in the Southern Rio Grande do Sul State, Brazil. **Parasitología latinoamericana**, p. 46–50, 2008.

NOGUEIRA, R. DE M. S. et al. Molecular and serological detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1416–1422, dez. 2017.

O’NION, V. L. et al. Potentially Novel *Ehrlichia* Species in Horses, Nicaragua. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 335–338, fev. 2015.

OIE. **Equine Piroplasmosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. Acesso em: 10 jun. 2015.

OIE. **Chater 12.7. Equine Piroplasmosis**. 2007.

OLIVEIRA, P. R. DE. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 33, n. 1, p. 118–122, 2004.

OTOMURA, F. H. et al. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 761–764, jun. 2010.

OTOMURA, F. H. et al. Probability of occurrence of the Brazilian spotted fever in northeast of Paraná state, Brazil. **Resvista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 4, p. 394–400, 2016.

PAROLA, P. et al. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 657–702, 1 out. 2013.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 6, p. 897–928, 15 mar. 2001.

PASOLINI, M. P. et al. Inflammatory Myopathy in Horses With Chronic Piroplasmosis. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 1, p. 133–143, 18 jan. 2018.

PECKLE, M. et al. Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitology Research**, v. 112, n. 5, p. 2017–2025, 2013.

PRADO, L. G. et al. DETECÇÃO DIRETA E EVIDÊNCIA DE EXPOSIÇÃO À *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* EM EQUINOS DE MINAS GERAIS, BRASIL. **Ars Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 57–63, 2017a.

PRADO, L. G. et al. *Anaplasma phagocytophilum* direct detection and exposure evidence in equines from two breeding farms from Minas Gerais State, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, n. 0, 23 ago. 2018.

PRADO, R. F. S. et al. Soroprevalência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em equinos de uso militar no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 72–76, 2017b.

PRATA, M. C. DE A.; ALONSO, L. DA S.; SANAVRIA, A. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 3, n. 2, p. 55–57, 1996.

PROCHNO, H. C. et al. Seroprevalence rates of antibodies against *Theileria equi* in team roping horses from central-western region of Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 23, n. 1, 2014.

RECK, J. et al. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? **Preventive Veterinary Medicine**, v. 113, n. 1, p. 59–62, 1 jan. 2014.

RIBEIRO, M. F. B. B.; DA SILVEIRA, J. A. G. G.; BASTOS, C. V. Failure of the *Amblyomma cajennense* nymph to become infected by *Theileria equi* after feeding on acute or chronically infected horses. **Experimental Parasitology**, v. 128, n. 4, p. 324–327, ago. 2011.

RIBEIRO, M. F.; COSTA, J. O.; GUIMARÃES, A. M. Epidemiological aspects of

*Babesia equi* in horses in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary research communications**, v. 23, n. 6, p. 385–90, out. 1999.

ROBY, T. O. et al. THE HEREDITARY TRANSMISSION OF *BABESIA CABALLI* IN THE TROPICAL HORSE TICK, *DERMACENTOR NITENS* NEUMANN. **American journal of veterinary research**, v. 25, p. 494–9, mar. 1964.

ROCHA, C. M. B. M. DA et al. Perceptions of milk producers from Divinópolis, Minas Gerais, regarding *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* control. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 295–302, dez. 2011.

RODRIGUES, V. DA S. et al. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 3, p. 379–384, mar. 2017.

ROHR, C. L. **Estudos sobre Ixodidas do Brasil**. Rio de Janeiro: Gomes Irmãos & C, 1909.

ROIER, E. C. R. et al. Epidemiological survey of *Neorickettsia risticii* in equids from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 939–946, out. 2016.

ROLIM, M. F. et al. SEROLOGICAL EVIDENCE OF EXPOSURE TO *Anaplasma phagocytophilum* IN HORSES FROM THE RIO DE JANEIRO STATE MOUNTED POLICE BRED IN THE URBAN ZONE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 377–387, set. 2015.

ROTHSCHILD, C. M. Equine piroplasmosis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 7, p. 497–508, 2013.

RUDENKO, N. et al. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 2, n. 3, p. 123–128, set. 2011.  
SALEEM, S. et al. Equine Granulocytic Anaplasmosis 28 years later. **Microbial Pathogenesis**, v. 119, p. 1–8, jun. 2018.

SALVAGNI, C. A. et al. Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 135–140, set. 2010.

SANTOS, T. M. DOS et al. Factors associated to *Theileria equi* in equids of two microregions from Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 235–41, set. 2011.

SCHEIN, F. B. et al. Molecular survey and genetic diversity of piroplasmids in equids from Midwestern Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinaria**, v. 27, n. 4, p. 464–472, 2018.

SCHWINT, O. N. et al. Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a

susceptible equine host. **Journal of medical entomology**, v. 45, n. 6, p. 1152–5, nov. 2008.

SCOLES, G. A.; UETI, M. W. Vector Ecology of Equine Piroplasmosis. **Annual Review of Entomology**, v. 60, n. 1, p. 561–580, 2015.

SCOLES, G. A.; UETI, M. W. *Amblyomma cajennense* is an intrastadial biological vector of *Theileria equi*. **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 306, 2013.

SENEVIRATNA, P.; WEERASINGHE; ARIYADASA, S. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Research in veterinary science**, v. 14, n. 1, p. 112–4, jan. 1973.

SILVEIRA, I. et al. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 62, n. 7, p. 525–533, nov. 2015.

SOCOLOSKI, S. N. G. et al. Epidemiological investigation of *Borrelia burgdorferi* in horses in the municipality of Sinop—MT, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 4, p. 831–836, abr. 2018.

SOUZA, A. P. DE et al. Prevalência de anticorpos anti-*Babesia equi* em eqüinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 119–121, mar. 2000.

SOUZA, C. E. DE; PINTER, A.; DONALISIO, M. R. Major Article Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin , State of São Paulo , Brazil. v. 48, n. November 2014, p. 11–17, 2015.

SPOLIDORIO, M. G. et al. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 521–523, mar. 2010a.

SPOLIDORIO, M. G. et al. Survey for tick-borne zoonoses in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 1, p. 201–6, jul. 2010b.

STEER, J. A. et al. A Novel Hemotropic Mycoplasma (Hemoplasma) in a Patient With Hemolytic Anemia and Pyrexia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 11, p. e147–e151, 1 dez. 2011.

STUEN, S. *Anaplasma Phagocytophilum* - the Most Widespread Tick-Borne Infection in Animals in Europe. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. S1, p. 79–84, 16 ago. 2007.

SUTHERST, R. W. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 1, p. 136–73, jan. 2004.

SYKES, J. E. Feline hemotropic mycoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 62–69, fev. 2010.

SYKES, J. E. et al. Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic

mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3782–5, out. 2010.

SZABÓ, J. et al. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 3, n. July, p. 1–9, 2013.

SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast Brazil: infestations before and after habitat loss. **Journal of medical entomology**, v. 40, n. 3, p. 268–74, maio 2003.

TAMEKUNI, K. et al. Serosurvey of antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp . in horse farms in Northern Paraná , Brazil. v. 2961, p. 259–261, 2010.

TASKER, S. Current concepts in feline haemobartonellosis. **In Practice**, v. 28, n. 3, p. 136–141, 1 mar. 2006.

TOLEDO, R. S. et al. Infection by Spotted Fever Rickettsiae in People, Dogs, Horses and Ticks in Londrina, Parana State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 58, n. 6, p. 416–423, set. 2011.

UENO, T. E. H. et al. Experimental infection of horses with *Rickettsia rickettsii*. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 499, 13 dez. 2016.

UETI, M. W. et al. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3755–9, 1 ago. 2005.

UILENBERG, G. *Babesia*—A historical overview. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 1–2, p. 3–10, 31 maio 2006.

VIANNA, M. C. B. et al. rickettsial Spotted Fever in Capoeirão Village , ITABIRA , Minas Gerais , Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 5, p. 297–301, out. 2008.

VIEIRA, M. I. B. et al. Serological detection and molecular characterization of piroplasmids in equids in Brazil. **Acta Tropica**, v. 179, n. September 2017, p. 81–87, mar. 2018a.

VIEIRA, R. F. D. C. et al. SEROLOGICAL SURVEY OF *Ehrlichia* SPECIES IN DOGS, HORSES AND HUMANS: ZOONOTIC SCENERY IN A RURAL SETTLEMENT FROM SOUTHERN BRAZIL. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 5, p. 335–340, set. 2013a.

VIEIRA, R. F. DA C. et al. Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas on human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 4, p. 353–357, ago. 2015a.

VIEIRA, T. S. et al. *Ehrlichia* sp. infection in carthorses of low-income owners, Southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, p. 1–

5, out. 2016.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 4, n. 6, p. 537–41, dez. 2013b.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Use of pan-hemoplasma PCR for screening horses highly exposed to tick bites from southern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 291, 27 fev. 2015b.

VIEIRA, T. S. W. J. et al. Potentially Same Novel *Ehrlichia* Species in Horses in Nicaragua and Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 5, p. 953–953, maio 2018b.

WISE, L. N. et al. Review of Equine Piroplasmosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1334–1346, nov. 2013.

XUAN, X. et al. Diagnosis of equine piroplasmosis in Brazil by serodiagnostic methods with recombinant antigens. **The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science**, v. 63, n. 10, p. 1159–60, out. 2001.

YOSHINARI, N. H. et al. Doença de lyme-símile brasileira ou síndrome baggiyoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363–369, 2010.

YPARRAGUIRRE, L. A. et al. A Hard Tick Relapsing Fever Group Spirochete in a Brazilian *Rhipicephalus* ( *Boophilus* ) *microplus*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 4, p. 717–722, dez. 2007.

YUAN, C. L. et al. Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. v. 70, n. 7, 2009.

ZOBBA, R. et al. Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmosis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 5, p. 301–308, 1 maio 2008.



**ANEXO 1. AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
(CEUA) - UFPR**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo número 046/2016, referente ao projeto **“Protocolo de monitoramento da Febre Maculosa Brasileira em áreas não endêmicas do Estado do Paraná: cavalos carroceiros e cães como sentinelas”**, sob a responsabilidade de **Thállitha Samih Wischral Jayme Vieira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 06/07/2016.

Vigência do projeto	Agosto/2016 até Agosto/2018
Espécie/Linhagem	<i>Canis lupus familiaris</i> (cão) e <i>Equus caballus</i> (equídeo)
Número de animais	1113 (765 cães e 348 equídeos)
Peso/Idade	Cães: > 10 kg / Não verificado; equídeos: 250 kg / Não verificado
Sexo	Não verificado
Origem	Animais de tutores das cidades de São José dos Pinhais e Foz do Iguaçu, Paraná

**CERTIFICATE**

We certify that the protocol number 046/2016, regarding the project **“Protocol for monitoring Brazilian Macular Fever in non-endemic areas of the State of Paraná: horses for traction and dogs as sentinels”** under **Thállitha Samih Wischral Jayme Vieiras** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 07/06/2016.

Duration of the project	August/2016 until August/2018
Specie/Line	<i>Canis lupus familiaris</i> (dog) and <i>Equus caballus</i> (equidae)
Number of animals	1113 (765 dogs and 348 equines)
Wheight/Age	Dogs:> 10 kg / Not verified; equines: 250 kg / Not verified
Sex	Not verified
Origin	Animal owners from São José dos Pinhais and Foz do Iguaçu, Paraná

Curitiba, 6 de julho de 2016.

  
**Simone Tostes de Oliveira Stedile**  
**Coordenadora CEUA-SCA**

ANEXO 2. QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

QUESTIONÁRIO EQUINOS FOZ DO IGUAÇU

Data da coleta

1. ID Animal

2. ID Amostra

DADOS DO PROPRIETÁRIO

3. Nome Proprietário

4. Telefone

5. RG

6. Endereço

7. Bairro

8. Escolaridade

☐ EF incompleto

☐ EM incompleto

☐ ES incompleto

☐ Analfabeto

☐ EF completo

☐ EM completo

☐ ES completo

9. Quantas pessoas moram na casa?

10. quantas trabalham?

11. Quantas crianças até 12 anos?

12. Quantas pessoas com idade entre 12 e 18 anos?

13. Renda mensal aproximada?

14. E dono do animal?

13. Renda mensal aproximada?

14. E dono do animal?

15. Quantos cavalos possui?

16. Qual maior problema enfrentado no município?

DADOS DO ANIMAL

17. Nome do animal

18. Raca

19. Sexo

20. Se macho, é castrado?

21. Se fêmea, estado reprodutivo

22. Já abortou?

23. Quando ocorreu aborto?

24. Animal trabalha puxando carroça?

25. Que horas sai de casa?

27. Animal já foi vermifugado?

28. Animal já foi vacinado?

29. Durante trabalho, animal se alimenta?

30. Durante trabalho, animal bebe água?

31. Quanto de água é fornecido?

32.1 Pasto

32.2 Farelo de trigo

32.3 Milho

32.4 Ração

32.5 Sal

32.6 Outros

33. Casqueamento

34. Já teve sangramento nasal?

35. Durante o trabalho?

SOBRE VETORES

36. Já foi picado por carrapato?

37. Fazem controle de carrapato?

38. Qual produto?

39. Presença de carrapato no animal?

40. Qual época do ano aparecem?

41. Frequencia do controle

☐ Mensal

☐ Semestral

☐ Trimestral

☐ Anual

42. Existem capivaras na região

43. Convive com outros animais?

44. Óbito de cavalo na propriedade?

45. Há quanto tempo?

46. Animal com quadro neurológico?

47. Quais sinais?

48. Óbitos de aves na propriedade ou em local proximo?

49. Animais medicados recentemente?

50. Medicados porque?

51. Cavalos de outro local recente?

52. Cavalo veio de onde?

53. Enviaram cavalo pra outro local recente?

54. Enviaram pra onde?

SOBRE AS PESSOAS

55. Origem da água consumida

☐ Rede pública

☐ Rio/córrego

☐ POCO

56. Qual destino do esgoto?

☐ Rede publica

☐ Fossa

☐ Rio/corrego

☐ Ceu aberto

57. Qual destino do lixo?

☐ Coleta publica

☐ Queima

☐ Quintal

58. Possui horta em casa?

59. Qual historico de meningite/encefalite na familia?

EXAME FÍSICO

60. Idade aproximada

61. Peso

62. Altura

63. Pulso

64. Frequencia Cardíaca

☐ Fraco

☐ Normal

☐ Forte

65. Frequencia respiratoria

66. TPC

67. Temperatura

68. Desidratação

☐ Ausente

☐ Leve

☐ Moderada

☐ Grave

69. Mucosas

70. Escore corporal

☐ Rosea

☐ Ictérica

☐ Palida

☐ Congesta

☐ Caquético

☐ Normal

☐ Magro

☐ Obeso

71. Cascos

72. Lesões na pele

☐ Normal

☐ Achinelado

☐ Encastelado

☐ Rachadura